

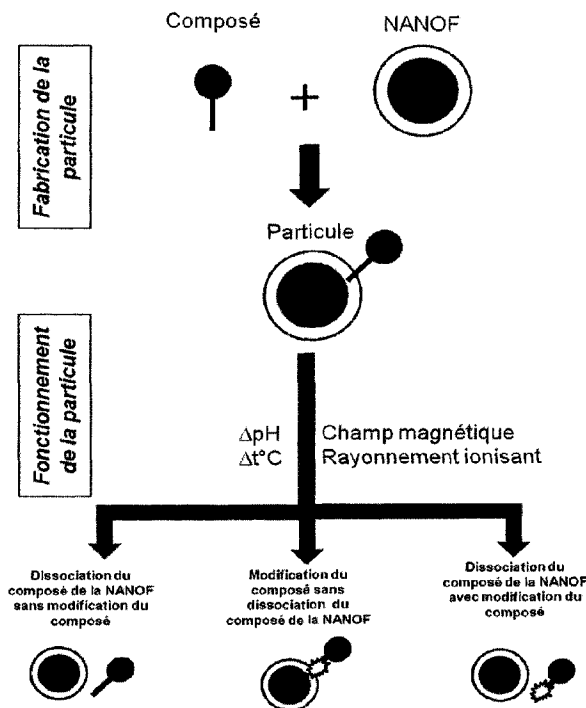


(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2016/10/21
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2017/04/27
(45) Date de délivrance/Issue Date: 2023/06/27
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 2018/02/22
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 2016/000173
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2017/068252
(30) Priorité/Priority: 2015/10/21 (FR15/02228)

(51) Cl.Int./Int.Cl. *G01N 33/52* (2006.01),
A61K 49/00 (2006.01), *A61K 9/00* (2006.01),
C09K 11/00 (2006.01)
(72) Inventeurs/Inventors:
ALPHANDERY, EDOUARD, FR;
CHEBBI, IMENE, FR
(73) Propriétaire/Owner:
NANOBACTERIE, FR
(74) Agent: NORTON ROSE FULBRIGHT CANADA
LLP/S.E.N.C.R.L., S.R.L.

(54) Titre : PARTICULE COMPRENANT AU MOINS UNE NANOPARTICULE D'OXYDE DE FER FERRIMAGNETIQUE OU FERROMAGNETIQUE ASSOCIEE A AU MOINS UN COMPOSE POUR UNE UTILISATION MEDICALE OU COSMETIQUE

(54) Title: PARTICLE COMPRISING AT LEAST ONE FERRIMAGNETIC OR FERROMAGNETIC IRON OXIDE NANOPARTICLE ASSOCIATED WITH AT LEAST ONE COMPOUND FOR MEDICAL OR COSMETIC USE



(57) Abrégé/Abstract:

La présente invention concerne l'utilisation, notamment in vitro, d'une particule comprenant : au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique associée à au moins un composé, dans laquelle le composé se dissocie de la nanoparticule d'oxyde de fer et/ou se modifie chimiquement, suite à une perturbation physico-chimique exercée sur la particule, à titre de sonde.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international(43) Date de la publication internationale
27 avril 2017 (27.04.2017)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2017/068252 A1

(51) Classification internationale des brevets :

G01N 33/52 (2006.01) A61K 49/00 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) C09K 11/00 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2016/000173

(22) Date de dépôt international :

21 octobre 2016 (21.10.2016)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

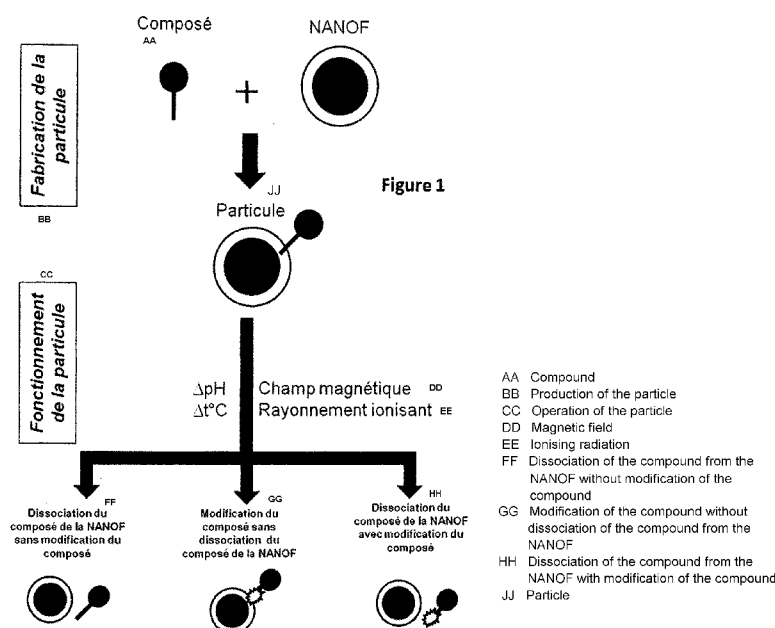
(30) Données relatives à la priorité :

15/02228 21 octobre 2015 (21.10.2015) FR

(71) Déposant : NANOBACTERIE [FR/FR]; 36 Boulevard
Flandrin, 75116 Paris (FR).(72) Inventeurs : ALPHANDÉRY, Edouard; 36 boulevard
Flandrin, 75116 Paris (FR). CHEBBI, Imène; 99 avenue
du général Leclerc, Résidence les chandeliers, bâtiment C,
91 120 Palaiseau (FR).(74) Mandataire : RIVAIN, Laurence; Nanobacterie, 36 Bou-
levard Flandrin, 751 16 Paris (FR).(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont re-
çues (règle 48.2.h)

(54) Title : PARTICLE COMPRISING AT LEAST ONE FERRIMAGNETIC OR FERROMAGNETIC IRON OXIDE NANOPAR-
TICLE ASSOCIATED WITH AT LEAST ONE COMPOUND FOR MEDICAL OR COSMETIC USE(54) Titre : PARTICULE COMPRENANT AU MOINS UNE NANOPARTICULE D'OXYDE DE FER FERRIMAGNETIQUE
OU FERROMAGNETIQUE ASSOCIEE A AU MOINS UN COMPOSE POUR UNE UTILISATION MEDICALE OU COSME-
TIQUE(57) Abstract : The invention relates to the use, particularly *in vitro*, of a particle as a probe, said particle comprising: at least one ferrimagnetic or ferromagnetic iron oxide nanoparticle (NANOF) associated with at least one compound, in which the compound breaks away from the iron oxide nanoparticle and/or is altered chemically following a physico-chemical disturbance exerted on the particle.(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation, notamment *in vitro*, d'une particule comprenant : au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique associée à au moins un composé, dans laquelle le composé se dissocie de la nanoparticule d'oxyde de fer et/ou se modifie chimiquement, suite à une perturbation physico-chimique exercée sur la particule, à titre de sonde.

PARTICULE COMPRENANT AU MOINS UNE NANOPARTICULE D'OXYDE DE FER FERRIMAGNETIQUE OU FERROMAGNETIQUE ASSOCIEE A AU MOINS UN COMPOSE POUR UNE UTILISATION MEDICALE OU COSMETIQUE.

5 **DOMAINE DE L'INVENTION**

Le domaine de l'invention concerne des particules comprenant au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique associée à au moins un composé et leur utilisation médicale ou cosmétique.

10 **ÉTAT DE LA TECHNIQUE**

Le fonctionnement de certaines nouvelles sondes repose sur la détection locale d'un paramètre tel que la température. Afin d'y parvenir, des thermomètres fluorescents ont été mis au point contenant des nanoparticules d'oxyde de fer associées à un fluorophore en utilisant des méthodes permettant habituellement d'éviter l'atténuation de luminescence par l'oxyde de fer, (S.K. Mandal *et al*, Langmuir, Vol. 21, P. 4175 (2005)). Toutefois, ces nanoparticules sont superparamagnétiques et sont donc faiblement magnétiques. Elles possèdent un moment magnétique instable à température physiologique ou ambiante.

De nouveaux modes de délivrance de médicaments ont également été proposés en associant les médicaments à des nanoparticules, notamment à des magnétosomes, permettant d'améliorer l'efficacité des médicaments, (J-B. Sun *et al*, Cancer Letters, Vol. 258, P. 109 (2007)). Toutefois, le médicament ne peut pas dans ce cas être relargué de manière contrôlée.

DESCRIPTION DE L'INVENTION

Un objet de la présente invention est l'utilisation, notamment *in vitro*, d'une particule comprenant :

au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique associée à au moins un composé, dans laquelle le composé se dissocie de la nanoparticule d'oxyde de fer et/ou se modifie chimiquement suite à une perturbation physico-chimique exercée sur la particule, à titre de sonde.

30 Plus particulièrement, un objet de la présente invention est l'utilisation, notamment *in vitro*, d'une particule comprenant :

au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique associée à au moins un composé, où la nanoparticule n'est préférentiellement pas liée au composé par au moins un acide nucléique ou par au moins un acide aminé, dans laquelle le composé se dissocie

de la nanoparticule d'oxyde de fer et/ou se modifie chimiquement, où la dissociation et/ou modification chimique du composé n'entraîne préférentiellement pas sa destruction, suite à une perturbation physico-chimique exercée sur la particule, où la perturbation physico-chimique induit préférentiellement un changement d'état de la nanoparticule,

5 à titre de sonde.

La particule selon l'invention peut comprendre au moins 1, 10, 10², 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁹, 10²⁰, ou 10⁴⁰ nanoparticule(s) d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique et/ou au moins 1, 10, 10², 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁹, 10²⁰, ou 10⁴⁰ composé(s).

La particule selon l'invention, lorsqu'elle est associée à une substance luminescente, diffère
10 dans son fonctionnement des sondes nanoparticulaires luminescentes décrites habituellement. En effet, son mode de fonctionnement original repose sur la détection d'une variation de luminescence due à la dissociation et/ou modification chimique d'une substance luminescente associée à la particule, suite à une perturbation physico-chimique exercée sur la particule.

Dans un mode de réalisation, la luminescence est associée à au moins une propriété de
15 luminescence qui varie de moins de 10⁻¹⁰, 10⁻⁵, 10⁻¹, 1, 10, 25, 50, 75, ou 90% alors que la variation de luminescence est associée à au moins une propriété de luminescence qui varie de plus de 10⁻¹⁰, 10⁻⁵, 10⁻¹, 1, 10, 25, 50, 75, ou 90%, où ce pourcentage de variation peut être mesuré au cours du temps ou entre au moins deux positions spatiales différentes de la particule.

La particule selon l'invention, lorsqu'elle est associée à un composé pharmaceutique, diffère
20 également dans son fonctionnement des nanoparticules associées à des médicaments. En effet, son mode de fonctionnement original repose sur la dissociation du composé pharmaceutique de la particule, suite à une perturbation physico-chimique exercée sur la particule.

L'utilisation *in vitro* de la particule peut correspondre à toute utilisation de cette particule ayant lieu à l'extérieur d'un homme ou d'un animal, sans contact avec un homme ou un animal ou
25 sans administration dans l'organisme d'un homme ou d'un animal.

L'utilisation *in vitro* de la particule selon l'invention peut correspondre à toute utilisation de cette particule se produisant avant l'administration ou l'introduction de cette particule dans un organisme ou partie de cet organisme ou après la sortie de cette particule de l'organisme ou partie de cet organisme consécutive à l'administration ou l'introduction de cette particule dans
30 l'organisme ou partie de cet organisme. Préférentiellement l'organisme est un organisme humain ou animal. Préférentiellement, la partie de cet organisme est une substance biologique, de l'ADN, ARN, une protéine, enzyme, un lipide, un tissu, une cellule, une organelle, le sang, ou une tumeur.

Dans un mode de réalisation de l'invention, l'utilisation *in vitro* de la particule peut correspondre à un traitement médical, par exemple de diagnostic ou thérapeutique, qui est localisé sur une partie d'un organisme et qui n'affecte pas l'ensemble de l'organisme, ou qui affecte moins de 90, 50, 25, 10, 5, 1, ou 0,1 % de cet organisme ou des cellules de cet organisme.

5 L'utilisation *in vitro* de la particule peut correspondre à un traitement médical qui affecte au moins une cellule, préférentiellement une cellule procaryote ou eucaryote, un tissu, un organe ou au moins une substance biologique qui est différent d'une cellule, tissu, organe ou substance biologique présent dans un organisme dans son état normal, telle qu'une cellule, tissu, ou organe cancéreux ou telle qu'une bactérie ou tel qu'un virus.

10 Dans un mode de réalisation, l'utilisation de la particule selon l'invention à titre de sonde permet de détecter, mesurer un paramètre tel que la température, le pH, un environnement chimique, ou un rayonnement. Elle peut alors dans certains cas être utilisée comme outil de diagnostic.

Dans un autre mode de réalisation, l'utilisation de la particule selon l'invention à titre de sonde
15 permet de modifier un paramètre, tel que l'état d'une cellule ou un état physiologique. Elle peut alors dans certains cas être utilisée comme outil de traitement.

La particule selon l'invention est un assemblage d'atomes, de molécules, à l'état solide, liquide ou gazeux, préférentiellement à l'état solide.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule n'est pas ou ne contient pas de liquide
20 cristallin ou de dendrimère.

Le composé est une substance luminescente et/ou un composé pharmaceutique.

La substance luminescente est une substance capable d'émettre de la lumière lorsqu'elle est ou a été exposée à un rayonnement lumineux. Elle peut être phosphorescente ou fluorescente.

Le composé pharmaceutique est un composé qui est utilisé soit pour des applications médicales,
25 notamment de diagnostic ou de traitement, notamment à titre de dispositif médical ou de médicament, soit pour des applications cosmétiques, soit pour des applications biologiques, notamment à des fins de recherche.

Dans un mode de réalisation de l'invention, NANOF désigne une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique, aussi parfois appelée de manière équivalente
30 nanoparticule, la nanoparticule ou la nanoparticule d'oxyde de fer.

Une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique selon l'invention, désignée ici par NANOF, possède au moins l'une des propriétés suivantes: (i), un cœur habituellement cristallisé, où cette cristallinité peut être caractérisée par la présence d'au moins un plan cristallin, préférentiellement au moins cinq plans cristallins, plus préférentiellement au

moins dix plans cristallins, et dont la composition est de l'oxyde de fer, préférentiellement au moins en partie constituée de maghémite, de magnétite ou d'un mélange de maghémite et de magnétite, le plus préférentiellement une composition majoritairement à base de magnétite, (ii), un revêtement, aussi parfois appelé membrane, soit d'origine biologique, composé par exemple
5 de lipides et de protéines, soit d'origine non biologique, où ce revêtement peut permettre de favoriser un transfert d'énergie ou de particule entre le composé et la NANO, de stabiliser la NANO, de la rendre biocompatible, de favoriser son internalisation cellulaire, de la coupler à différents types de substances dont la substance luminescente, une substance d'intérêt médical, de faible abondance naturelle, (iii), un comportement habituellement ferrimagnétique ou
10 ferromagnétique, notamment aux températures physiologiques, (iv), un seul domaine magnétique appelé monodomaine, (v), un possible arrangement en chaîne empêchant ou limitant l'agrégation et pouvant favoriser l'internalisation cellulaire, (vi), une taille mesurée en présence ou en absence d'un revêtement comprise entre 1 nm et 1 µm, entre 10 nm et 200 nm, entre 20 nm et 150 nm, (vii), la présence possible d'une charge, préférentiellement une charge
15 de surface, où cette charge peut être négative, notamment lorsque les nanoparticules sont recouvertes de lipides négativement chargés, où cette charge peut varier en fonction du pH, de l'existence ou non d'un revêtement, et peut favoriser l'internalisation cellulaire, notamment lorsqu'elle est positive ou négative, (viii), au moins un atome métallique, tel qu'un atome de fer, et au moins un autre atome, tel qu'un atome d'oxygène, dont les moments magnétiques sont
20 préférentiellement antiparallèles, menant à des propriétés qui peuvent être ferrimagnétiques, ou (ix), au moins un atome métallique, tel qu'un atome de fer, et au moins un autre atome, tel qu'un autre atome de fer, dont les moments magnétiques sont préférentiellement parallèles, menant à des propriétés qui peuvent être ferromagnétiques.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la nanoparticule d'oxyde de fer est soit entièrement
25 ferrimagnétique soit entièrement ferromagnétique, mais il peut arriver dans certains cas que l'alignement des moments magnétiques diffère entre la surface et le cœur de la nanoparticule, par exemple lorsqu'on considère une nanoparticule d'oxyde de fer dont le cœur contient du fer et dont la surface est de l'oxyde de fer.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la nanoparticule d'oxyde de fer est ferrimagnétique
30 ou ferromagnétique en dessous de la température de Curie ou de la température de fusion de la nanoparticule ou au-dessus de la température de blocage de la nanoparticule ou à un pH de 7, 6, 5, 4, 8, 9 ou 10, ou lorsque l'énergie d'anisotropie de la nanoparticule est plus élevée que l'énergie thermique de la nanoparticule, pouvant mener à un moment magnétique stable thermiquement de la nanoparticule.

Dans certains modes de réalisation de l'invention, il peut arriver que la nanoparticule perde ses propriétés ferromagnétiques ou ferrimagnétiques, par exemple lorsqu'elle est dissoute *in vivo*, lorsqu'elle est internalisée dans des cellules ou des lysosomes, notamment à des pH qui diffèrent significativement du pH physiologique.

- 5 Le comportement ferrimagnétique ou ferromagnétique des NANOF résulte en un moment magnétique stable thermiquement, notamment aux températures physiologiques et en une coercivité, aimantation rémanente, aimantation à saturation, anisotropie magnétocristalline, capacité à produire de la chaleur sous l'application d'un champ magnétique alternatif non nulle(s), préférentiellement élevée(s). La NANOF peut ainsi avoir une coercivité supérieure à
- 10 1, 10, 100, 200, 500, 1000, ou 10000 Oe, un rapport entre aimantation rémanente et aimantation à saturation supérieur à 0,01, 0,1, 0,2, ou 0,5, une aimantation à saturation supérieure à 0,1, 1, 10, 20, 50, 60, 80, 90, ou 100 emu par gramme de NANOF, ou un taux d'absorption spécifique (SAR en anglais) supérieur à 0,01, 0,1, 1, 10, 100, 200, 500, ou 1000 Watt par gramme de NANOF. La coercivité, le rapport entre aimantation rémanente et aimantation à saturation, ou
- 15 l'aimantation à saturation, sont préférentiellement mesurés à une température supérieure à 0,1, 1, 10, 50, 100, 200, 400, ou 800 K. La SAR est préférentiellement mesurée à une concentration en NANOF supérieure à 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 15, 20, 50, 100, ou 200 mg par ml, préférentiellement en appliquant un champ magnétique alternatif d'intensité supérieure ou inférieure à 0,1, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 1000, ou 10000 mT et/ou de fréquence supérieure ou
- 20 inférieure à 1, 10, ou 100 Hz, 1, 10, 100, 1000, ou 10000 KHz. Ces propriétés magnétiques sont en général meilleures que celles des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques, appelées SPION, qui sont couramment utilisées pour les applications, notamment médicales. Les SPION sont de plus petites tailles que les NANOF et possèdent un moment magnétique habituellement instable thermiquement aux températures physiologiques. Le comportement
- 25 ferrimagnétique ou ferromagnétique des NANOF peut aussi se traduire par au moins l'une des propriétés suivantes: (i), une interaction entre le moment magnétique des NANOF et un dipôle, moment magnétique, de la substance luminescente résultant en une atténuation de la luminescence de cette substance luminescente, habituellement plus efficace que pour les SPION, (ii), un couplage entre le moment magnétique des NANOF et un rayonnement,
- 30 préférentiellement un champ magnétique, plus préférentiellement un champ magnétique alternatif, permettant d'induire une variation de luminescence, préférentiellement plus importante que pour les SPION, (iii), un mouvement dans l'organisme du composé ou de la particule pouvant plus facilement être induit par l'application d'un champ magnétique, préférentiellement un gradient de champ magnétique, plus préférentiellement un gradient de

champ magnétique alternatif, ou (iv), une internalisation cellulaire du composé ou de la particule favorisée par l'application d'un champ magnétique, préférentiellement un champ magnétique alternatif, pouvant notamment permettre au composé ou à la particule de mesurer en intracellulaire une variation de l'environnement du composé ou de la particule ou les propriétés d'un rayonnement auquel elle est exposée.

La NANOF est associée au composé ce qui est équivalent à dire que le composé est associé à la NANOF. Dans ce cas, le composé possède au moins l'une des propriétés suivantes. Il peut être : (i), lié à la NANOF, (ii), en interaction avec la NANOF, (iii), intégré à la NANOF, notamment lors de la fabrication de la particule, (iv), contenu dans la NANOF, (v), issu de la NANOF, notamment lorsqu'il se détache de la NANOF lors du fonctionnement de la particule, (vi), incorporé ou adsorbé au cœur cristallisé de la NANOF, (vii), incorporé ou adsorbé au revêtement couvrant la NANOF, (viii), dans l'environnement de la NANOF, (ix), en contact direct avec la NANOF, c'est-à-dire notamment sans qu'il y ait de substance entre le composé et la NANOF, ou (x), en contact indirect avec la NANOF, c'est-à-dire notamment qu'au moins une substance, un polymère, ou un solvant, est positionné entre la NANOF et le composé.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance, polymère, ou solvant, positionné entre la NANOF et le composé, n'est pas synthétisé par un organisme vivant, n'est pas une protéine, un lipide, une enzyme, de l'ADN, un brin d'ADN, de l'ARN, un brin d'ARN, un ou plusieurs acide(s) nucléique(s), un ou plusieurs acide(s) aminé(s), n'est pas une substance biologique active, ou n'est pas de la stréptavidine ou de la biotine, Dans ce cas, la NANOF peut ne pas être liée au composé par au moins une telle substance, polymère ou solvant, positionné entre la NANOF et le composé.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la NANOF n'est pas liée au composé par au moins 1, 10, 10^2 , 10^3 , 10^6 , 10^{10} , 10^{20} , ou 10^{40} acide(s) aminé(s), acide(s) nucléique(s), brin(s) d'ADN, brin(s) d'ARN, protéine(s), lipide(s), ou enzyme(s).

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance, polymère, ou solvant, positionné entre la NANOF et le composé, peut être au moins un atome, tel que du carbone, ou complexe d'atomes, issu d'un organisme vivant, provenant d'une protéine, un lipide, de l'ADN, ou de l'ARN, où cet atome ou complexe d'atomes a préférentiellement été dénaturé par un traitement chimique et/ou thermique.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance, polymère, ou solvant, positionné entre la NANOF et le composé, représente moins de 90, 50, 25, 10, 5, 1, ou 0.1% de la masse de la NANOF, où ce pourcentage peut correspondre à la masse de la substance, polymère, ou solvant, divisée par la masse de la NANOF.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance, le polymère, ou le solvant, positionné entre la NANOF et le composé, n'est pas dénaturé ou détruit, suite à la perturbation physico-chimique exercée sur la particule, ou n'est pas responsable de la dissociation du composé de la NANOF et/ou de la modification chimique du composé, suite à la perturbation physico-chimique exercée sur la particule. Cette dénaturation ou destruction peut être associée à une perte ou diminution d'activité de la substance, polymère, ou solvant, telle qu'une perte ou diminution d'activité d'une protéine, d'un lipide, d'une enzyme, une transformation d'ADN double brin en ADN simple brin, ou une perte d'au moins un acide aminé ou d'au moins un acide nucléique par un complexe d'acides aminés ou d'acides nucléiques.

Dans un mode de réalisation, la NANOF est responsable de la dissociation du composé de la NANOF et/ou de la modification chimique du composé, suite à la perturbation physico-chimique exercée sur la particule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le composé est en contact direct avec la NANOF lorsque la distance entre le composé et la NANOF est inférieure à 10 μm , 1 μm , 100 nm, 10 nm, ou 1 nm.

L'environnement de la NANOF peut être un milieu liquide, solide ou gazeux ou au moins 1, 10, 10², 10³, 10⁶, 10¹⁰, ou 10⁴⁰ substance(s), préférentiellement une ou des substance(s) différente(s) du composé, qui entoure(nt) ou inclus(en)t la particule sur une distance mesurée à partir du centre ou de la surface extérieure de la particule de préférence inférieure à 1 m, 1 dm, 1 cm, 1 mm, 1 μm , 100 nm, ou 10 nm.

L'environnement de la NANOF peut être un milieu liquide, solide ou gazeux ou au moins 1, 10, 10², 10³, 10⁶, 10¹⁰, ou 10⁴⁰ substance(s), préférentiellement une ou des substance(s) différente(s) du composé, qui entoure(nt) ou inclus(en)t la particule sur une distance mesurée à partir du centre ou de la surface extérieure de la particule de préférence supérieure à 1 m, 1 dm, 1 cm, 1 mm, 1 μm , 100 nm, ou 10 nm.

L'environnement de la NANOF peut être un milieu liquide, solide ou gazeux ou au moins 1, 10, 10², 10³, 10⁶, 10¹⁰, ou 10⁴⁰ substance(s), préférentiellement une ou des substance(s) différente(s) du composé, qui entoure ou entourent ou inclus ou incluent la particule sur une distance mesurée à partir du centre ou de la surface extérieure de la particule de préférence inférieure ou supérieure au diamètre de la terre, ou à 1000 km, ou à 1 km, ou à 1 m, ou à 1 dm, ou à 1 cm, ou à 1 mm, ou à 1 μm , ou à 100 nm, ou à 10 nm.

Selon l'invention, le composé est dit se dissocier de la NANOF lorsqu'il se sépare de la NANOF pour se retrouver dans l'environnement de la NANOF.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule est inactivée ou est dans un état inactivé lorsqu'aucune perturbation physico-chimique n'est exercée sur elle.

Dans un autre mode de réalisation, la particule est activée ou est dans un état activé lorsqu'une perturbation physico-chimique est exercée sur elle.

5 La sonde selon l'invention peut contenir la particule dans un état activé et/ou inactivé.

Une NANOF et/ou un composé et/ou un magnétosome, modifié ou non, peut ou peuvent, selon l'invention, être dans un état activé ou être dans état inactivé.

Une perturbation physico-chimique peut être exercée à l'aide d'un appareil fabriqué par l'homme, tel qu'un IRM, ou de manière naturelle par l'environnement naturel de la particule,
10 tel qu'un environnement radioactif.

La dissociation du composé de la NANOF peut être caractérisée par une constante de dissociation, K_D , pouvant être égale au rapport entre la concentration du composé lié à la NANOF, mesurée lorsque la particule est activée, divisée par cette même concentration, mesurée lorsque la particule est inactivée. De préférence, la constante K_D selon l'invention peut
15 être inférieure à 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,1, 0,05, 0,01, 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , ou 10^{-9} . Suivant cette définition, plus K_D est faible, plus la dissociation du composé de la NANOF est importante.

Une mesure de la force de liaison ou d'interaction entre le composé et la NANOF peut être donnée par la valeur de la constante de dissociation, K_D . Plus K_D a une valeur élevée, plus la
20 liaison entre le composé et la NANOF est forte.

Le composé est dit se modifier chimiquement lorsque sa composition et/ou sa structure change(nt), induisant une modification de certaines de ses propriétés, notamment de luminescence et/ou pharmacologiques.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la dissociation et/ou modification chimique du composé n'entraîne(nt) pas sa destruction ou sa dénaturation ou préserve le composé. Dans ce
25 cas, la dissociation et/ou modification chimique du composé n'entraîne(nt) préférentiellement pas sa dénaturation ou destruction totale ou partielle, ou la perte d'au moins 1, 10, 10^2 , 10^5 , 10^{10} , ou 10^{20} atomes, ou la perte d'au moins 0,1, 1, 5, 10, 25, 50, ou 90% de son poids, ou la perte d'au moins l'une de ses propriétés telle que la perte d'une propriété de luminescence ou
30 d'une propriété pharmacologique, ou la diminution de plus de 1, 5, 10, 25, 50, 90% de son intensité de luminescence, ou la perte de son activité thérapeutique ou de diagnostic. Une perturbation physico-chimique est de préférence une perturbation causée par un rayonnement et/ou par une variation de l'environnement de la particule, de la NANOF ou du composé.

La perturbation physico-chimique exercée sur la NANOF d'oxyde de fer peut induire un changement d'état de la NANOF, préférentiellement de manière sélective sans induire un tel changement d'état chez le composé. Cela peut être le cas lorsque la NANOF est exposée à une perturbation physico-chimique qui induit un changement d'état tel qu'un mouvement, ou une
5 augmentation de température de la NANOF. La perturbation physico-chimique peut induire un plus grand changement d'état, tel qu'une plus grande variation de température, un mouvement plus important ou une modification plus importante d'une propriété chez la NANOF que chez le composé. Afin de mettre évidence cette différence de changement d'état, la perturbation physico-chimique peut être exercée sur la NANOF seule et sur le composé seul et la
10 modification d'une des propriétés de la NANOF seule peut être mesurée et être plus importante que la modification de cette même propriété chez le composé seul, suite à l'application de cette perturbation.

La perturbation physico-chimique est de préférence une perturbation qui ne modifie pas de manière irréversible les propriétés du composé ou de la NANOF, préférentiellement les
15 propriétés de luminescence ou de substance thérapeutique du composé. Une telle perturbation, menant à la dénaturation du composé ou de la NANOF, consistant en une augmentation de température, au-delà de la température de fusion ou de dénaturation du composé ou de la NANOF, est par exemple préférentiellement évitée. On préfère que la perturbation physico-chimique soit suffisamment modérée pour que le composé préserve au moins en partie ses
20 propriétés, préférentiellement de luminescence ou de substance thérapeutique, suite à l'application de cette perturbation.

Une perturbation physico-chimique est de préférence une perturbation suffisamment modérée, telle qu'une augmentation modérée de température, préférentiellement inférieure à 300, 200, 100, 50, 20, 10, ou 1 °C, de la particule qui peut résulter en une perte de masse de la particule
25 de moins de 90, 50, 25, 10, 5, 1, ou 0,1 %.

Un rayonnement peut être un rayonnement ondulatoire ou particulaire, sonore, ionisant, un rayonnement de rayons X, électromagnétique, un rayonnement du à un champ électrique, magnétique ou électromagnétique, ou un rayonnement causé par des neutrons, protons, électrons, positron, particules alpha, bêta, gamma, des neutrinos ou des muons.
30 L'environnement de la particule peut être un milieu liquide, solide ou gazeux ou au moins 1, 10, 10², 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁹, 10²⁰, ou 10⁴⁰ substance(s) qui entoure(nt) ou inclu(en)t la particule sur une distance mesurée à partir du centre ou de la surface externe de la particule de préférence inférieure à 10 000 km, 1 000 km, 100 km, 10 km, 1 km, 1 m, 1 dm, 1 cm, 1 mm, 1 µm, 100 nm, ou 10 nm.

L'environnement de la particule selon l'invention peut être un milieu liquide, solide ou gazeux ou au moins 1, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^9 , 10^{20} , ou 10^{40} substance(s) qui entoure(nt) ou inclus(en)t la particule sur une distance mesurée à partir du centre ou de la surface externe de la particule de préférence supérieure à 10 000 km, 1 000 km, 100 km, 10 km, 1 km, 1 m, 1 dm, 5 1 cm, 1 mm, 1 μ m, 100 nm, ou 10 nm.

L'environnement de la particule selon l'invention peut être un milieu liquide, solide ou gazeux ou au moins 1, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^9 , 10^{20} , ou 10^{40} substance(s) qui entoure ou entourent ou inclus ou incluent la particule sur une distance mesurée à partir du centre ou de la surface externe de la particule de préférence supérieure ou inférieure au diamètre de la terre, ou 10 à 10 000 km, ou à 1 000 km, ou à 100 km, ou à 10 km, ou à 1 km, ou à 1 m, ou à 1 dm, ou à 1 cm, ou à 1 mm, ou à 1 μ m, ou à 100 nm, ou à 10 nm.

L'environnement du composé selon l'invention peut être un milieu liquide, solide ou gazeux ou au moins 1, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^9 , 10^{20} , ou 10^{40} substance(s) qui entoure ou entourent ou inclus ou incluent le composé sur une distance mesurée à partir du centre ou de la surface externe du composé de préférence supérieure ou inférieure au diamètre de la terre, ou à 15 10 000 km, ou à 1 000 km, ou à 100 km, ou à 10 km, ou à 1 km, ou à 1 m, ou à 1 dm, ou à 1 cm, ou à 1 mm, ou à 1 μ m, ou à 100 nm, ou à 10 nm.

L'environnement de la particule selon l'invention peut inclure la particule, le composé et/ou la NANOF.

20 Une substance de l'environnement de la particule, du composé ou de la NANOF selon l'invention peut être un atome, une molécule, un polymère, une substance chimique ou biologique, préférentiellement une substance différente du composé ou de la NANOF, de l'ADN, de l'ARN, une protéine, un lipide, une enzyme, ou un acide nucléique ou aminé contenu dans cet environnement.

25 L'environnement de la particule, du composé ou de la NANOF selon l'invention peut être un environnement biologique, c'est-à-dire un environnement comprenant au moins une substance biologique telle qu'une cellule, une organelle, de l'ADN, ARN, une protéine, un lipide, un acide aminé, ou un acide nucléique.

La variation de l'environnement de la particule, de la NANOF ou du composé selon l'invention 30 peut être une variation de pH, préférentiellement inférieure ou supérieure à 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, ou 0,1 unités de pH, une variation de température, préférentiellement inférieure ou supérieure à 500, 400, 300, 200, 100, 50, 25, 10, 5, 1, ou 0,1 °C, une variation de potentiel d'oxydo-réduction, préférentiellement inférieure ou supérieure à 1000, 100, 10, 5, 2, 1, 0,1, ou 0,01 V, une variation de viscosité, préférentiellement de viscosité dynamique,

préférentiellement inférieure ou supérieure à 10^{20} , 10^{10} , 10^5 , 10^3 , 10^2 , 10 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-6} , 10^{-9} , ou 10^{-20} Pa.s, ou une variation de composition chimique de cet environnement. La variation de composition chimique de cet environnement peut correspondre à la variation de concentration d'au moins une substance de cet environnement et être préférentiellement

5 inférieure ou supérieure à 100, 10, 1, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-6} , ou 10^{-9} M.

Dans la présente description, on distingue notamment le cas où la particule est inactivée et ne subit pas de perturbation physico-chimique de celui où elle est activée et subit une telle perturbation.

Les conditions de fonctionnement de la particule selon l'invention correspondent aux

10 conditions dans lesquelles la particule passe d'un état inactivé à un état activé ou *vice versa* d'un état activé à un état inactivé.

Pour certains modes de fonctionnement de la particule selon l'invention, le composé est en plus forte interaction avec la NANOF lorsque la particule est inactivée que lorsque la particule est activée. Cela peut notamment être le cas lorsque le fonctionnement de la particule fait intervenir

15 une dissociation du composé de la NANOF.

Pour d'autres modes de fonctionnement de la particule selon l'invention, l'interaction entre la NANOF et le composé peut ne pas varier ou même augmenter lorsque la particule passe de l'état inactivé à l'état activé. Cela peut notamment être le cas lorsque le fonctionnement de la particule fait intervenir une modification chimique du composé.

20 Un schéma est présenté Figure 1 qui illustre le fonctionnement de la particule selon l'invention en faisant intervenir soit une dissociation du composé de la NANOF soit une modification chimique du composé.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique (NANOF) est synthétisée par une bactérie magnétotactique et ne comprend

25 pas de matière carbonée provenant de la bactérie.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la NANOF est synthétisée par un organisme vivant, préférentiellement une bactérie, plus préférentiellement une bactérie magnétotactique.

Suivant un mode de réalisation de l'invention, les NANOF sont des nanoparticules synthétisées par des bactéries magnétotactiques, notamment sélectionnées dans le groupe constitué de

30 *Magnetospirillum magneticum* AMB-1, les *coccus* MC-1, les *vibrios* MV-1, MV-2 et MV-4, les *Magnetospirillum magneticum* MS-1, les *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, des *spirillum*, les *Magnetospirillum magneticum* MGT-1 et les *Desulfovibrio magneticus* RS-1.

Une NANOF synthétisée par une bactérie magnétotactique est un magnétosome, notamment tel que défini par D. A. Bazylinski et al, Nature Reviews Microbiology, V. 2, P. 217 (2004).

Une NANOF, selon l'invention, peut être synthétisée par voie chimique ou par un autre organisme vivant qu'une bactérie magnétotactique et avoir au moins une propriété identique ou similaire à celle d'un magnétosome, modifié ou non.

Un magnétosome, selon l'invention, peut avoir au moins une propriété identique ou similaire à celle d'une NANOF.

Dans un mode de réalisation de l'invention, les magnétosomes sont sous forme de chaîne contenant de 2 à 1000 magnétosomes, de 2 à 500 magnétosomes, de 2 à 250 magnétosomes, de 2 à 100 magnétosomes, de 2 à 75 magnétosomes, typiquement de 4 à 20 magnétosomes, préférentiellement maintenus arrangés en chaînes par du matériau, d'origine biologique (lipides et protéines par exemple) ou non biologique.

Les magnétosomes appartenant à ces chaînes possèdent habituellement des directions cristallographiques, des axes de facile aimantation, ou des lignes de champ, qui sont alignés dans la direction de l'élongation des chaînes. Cet alignement permet entre autre de stabiliser le moment magnétique des magnétosomes. Par conséquent, les chaînes de magnétosomes possèdent une anisotropie magnétique importante. Lorsque plusieurs chaînes de magnétosomes contenant au moins X magnétosomes interagissent, il en résulte la formation d'une plus longue chaîne de magnétosomes contenant au moins X+1 magnétosomes.

La longueur d'une chaîne de magnétosomes selon l'invention peut être inférieure ou supérieure à 1 m, 1 dm, 1 cm, 1 mm, 100 μ m, 10 μ m, 1 μ m, 600 nm, 300 nm. Du fait de leur arrangement en chaînes, les magnétosomes ne s'agrègent pas et possèdent un moment magnétique stable qui peut se coupler au champ magnétique, favorisant ainsi la variation de luminescence de ladite sonde. L'arrangement en chaînes permet également de favoriser l'internalisation cellulaire des magnétosomes, elle-même renforcée par l'application d'un champ magnétique alternatif.

Dans un mode de réalisation de l'invention, afin de déterminer si les NANOF ou magnétosomes sont sous forme de chaînes ou non, quelques microlitres d'une suspension de NANOF sont déposés sur un support, habituellement une grille de carbone, et les NANOF sont analysées au microscope électronique. Les NANOF sont considérées comme arrangées en chaîne lorsqu'elles possèdent des axes ou directions cristallographiques, notamment au moins 1, 2, 5, 10, 20, 30, 50, alignés dans la direction d'élongation d'une chaîne. Un tel alignement peut signifier que l'angle entre la direction cristallographique d'une NANOF et la direction d'élongation de la chaîne est inférieur à 90, 80, 50, 40, 20, 10, ou 5°. Les NANOF ne possédant pas cette propriété ne sont pas arrangées en chaînes.

Dans un mode de réalisation de l'invention, les bactéries magnétotactiques peuvent être cultivées dans un milieu, tel que celui décrit dans la demande de brevet WO2011/061259.

5 Dans un mode de réalisation de l'invention, le milieu de culture des bactéries magnétotactiques contient au moins une source de fer, telle qu'une solution de quinate de fer, de citrate de fer, de chlorure de fer, de malate de fer, ou de sulfate ferreux, notamment à des concentrations comprises entre 0,02 μM et 2 M, 0,02 μM et 200 mM, 0,2 μM et 20 mM, 2 μM et 2 mM, ou entre 20 μM et 200 μM et un ou plusieurs autres additifs habituellement ajouté(s) à des concentrations comprises entre 0,01 μM et 1 M, 0,01 μM et 100 mM, 0,01 μM et 10 mM, 0,01 μM et 1 mM, 0,1 μM et 100 μM , ou entre 1 μM et 10 μM . Ces additifs sont préférentiellement choisis parmi les métaux de transition, les agents chélateurs, les substances luminescentes, les substances/isotopes de faible fréquence/abondance naturelle, les substances ayant les propriétés de plusieurs des substances précitées. Des bactéries ou ces additifs peuvent être introduits dans le milieu de culture lors d'au moins une des différentes phases de croissance des bactéries magnétotactiques, telle que la phase de latence, la phase d'accélération, la phase exponentielle, la phase de décélération ou la phase stationnaire et/ou les bactéries peuvent être cultivées en présence d'une faible concentration d'oxygène, inférieure à 1000 bar, 100 bar, 10 bar, 1 bar, 200 mbar, ou 20 mbar et/ou le pH ou un autre paramètre du milieu de croissance des bactéries magnétotactiques est maintenu à une valeur constante ou quasi constante pendant la croissance des bactéries magnétotactiques, par exemple par ajout d'une solution acide ou basique contenant préférentiellement une certaine concentration de ces additifs. Par ailleurs, ces additifs et conditions de croissance des bactéries sont préférentiellement choisis parmi ceux qui permettent d'éviter la toxicité, qui confèrent de bonnes propriétés magnétiques et/ou de luminescence à ladite sonde, qui permettent aux additifs de s'incorporer dans les bactéries magnétotactiques et/ou dans les magnétosomes, qui produisent une augmentation de taille et/ou de longueur des chaînes des magnétosomes, qui stimulent la croissance des bactéries magnétotactiques, qui permettent d'atteindre un rendement de production des magnétosomes suffisamment élevé, notamment supérieur à 0,1 mg, 1 mg, 10 mg, 100 mg, 1g, 10 g de magnétosomes par litre de culture, qui permettent d'obtenir une distribution en tailles des magnétosomes étroite, notamment de moins de 60 nm, 30 nm, 15 nm, 10 nm, 5 nm, ou 1 nm.

30 Dans un mode de réalisation de l'invention, l'association aux magnétosomes de la substance luminescente peut être ou peut ne pas être obtenue par manipulation génétique des bactéries magnétotactiques.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente n'est préférentiellement pas une protéine fluorescente, telle qu'une protéine fluorescente verte ou jaune, une enzyme fluorescente, un acide aminé fluorescent, un acide nucléique fluorescent, de l'ADN ou brin d'ADN fluorescent, ou de l'ARN ou brin d'ARN fluorescent.

5 Un autre objet de l'invention est une méthode de fabrication de la particule comprenant la culture des bactéries magnétotactiques en présence d'une substance luminescente suivie de l'extraction des magnétosomes de ces bactéries, de leur purification et de leur caractérisation.

Un autre objet de l'invention est une méthode de fabrication de la particule comprenant la culture des bactéries magnétotactiques en absence de substance luminescente suivie de
10 l'extraction des magnétosomes de ces bactéries, de leur purification, de l'association de la substance luminescente aux magnétosomes et de leur caractérisation.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la NANOF est un magnétosome modifié.

Un magnétosome modifié est préférentiellement un magnétosome ne comprenant pas, essentiellement pas, ou en faible quantité, de matière organique ou carbonée, constitué
15 notamment de lipides, protéines, ADN, ARN, ou enzymes, pouvant notamment entourer le cœur minéral des magnétosomes.

Dans un mode de réalisation de l'invention, un minéral ne contient pas de carbone ou moins de 75%, 50%, 25%, 10%, 5%, 2%, 1%, ou 0,5% de carbone.

Dans un mode de réalisation de l'invention, un magnétosome modifié selon l'invention
20 comprend moins de 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 1%, ou 0,1% de matière carbonée, où ce pourcentage de matière carbonée peut être défini comme étant le rapport entre le nombre d'atomes de carbones dans un magnétosome modifié et le nombre total d'atomes contenu dans un magnétosome modifié.

Un magnétosome modifié est préférentiellement un nanocristal constitué majoritairement d'un
25 cœur minéral et possiblement d'un revêtement qui ne provient pas de la bactérie magnétotactique. Un magnétosome modifié peut posséder au moins une propriété en commun avec un magnétosome non modifié, tel qu'un arrangement en chaîne.

Une préparation de magnétosome modifié selon l'invention est préférentiellement apyrogène, et ne contient pas, essentiellement pas, ou peu d'endotoxines ou de lipopolysaccharides.

30 Dans un mode de réalisation de l'invention, une préparation de magnétosome modifié comprend moins de 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , 10, 1, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , ou 10^{-5} UE (unités d'endotoxines) par mL par mg, par mg, ou par cm^3 de magnétosome modifié ou de préparation de magnétosome modifié.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la plus grande dimension de la particule est de préférence comprise entre 1 nm et 10 µm ou 10 nm et 1 µm.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la plus grande dimension de la particule est de préférence inférieure à 100 µm, 50 µm, 10 µm, 1 µm, 500 nm, 250 nm, 100 nm ou 50 nm.

- 5 Dans un mode de réalisation, la particule selon l'invention comprend en outre une substance sélectionnée dans le groupe constitué d'un isotope de faible fréquence ou abondance naturelle, d'un métal de transition, et d'une substance d'intérêt médical.

Avantageusement, un isotope de faible fréquence ou abondance naturelle peut être associé à la particule pour faciliter la détection de la particule dans un milieu contenant peu ou pas de cet isotope (par exemple le fer 54, 57 ou 59 qui sont peu présents à l'état naturel).

Avantageusement également, un métal de transition peut être associé à la particule afin d'en améliorer les propriétés magnétiques, permettant notamment de faciliter la détection de sa variation de luminescence.

- Avantageusement également, une substance d'intérêt médical tel qu'un agent ciblant, une substance utilisée lors d'une opération médicale, d'une thérapie, d'un diagnostic, d'une séance de chirurgie, radiothérapie, hyperthermie, IRM, chimiothérapie, peut être associée à la particule ou peut être le composé, afin notamment de faciliter ou d'améliorer son utilisation ou efficacité médicale.

- 20 Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention peut être encapsulée dans un compartiment, préférentiellement une vésicule, le plus préférentiellement une vésicule lipidique telle qu'un liposome, une vésicule géante ou un nanogel, notamment afin d'améliorer l'efficacité ou de diminuer la toxicité de la particule.

- Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention est associée, accrochée ou en interaction avec une substance n'appartenant pas à la particule. Cela peut permettre de détecter cette substance ou un état de cette substance. Cela peut aussi permettre d'améliorer les propriétés médicales, thérapeutiques, de diagnostic, magnétiques, de luminescence, de chauffage de la particule, ou de réduire les risques de toxicité, notamment en empêchant un contact direct entre la particule et l'organisme.

- 30 Dans un mode de réalisation de l'invention, la nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique (NANOF) est synthétisée par voie chimique.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le composé est associé à la NANOF par des liaisons faibles. Cette situation est préférentiellement rencontrée lorsque le fonctionnement de la particule selon l'invention fait intervenir une dissociation et/ou modification chimique du composé de la NANOF.

Les liaisons faibles sont préférentiellement des liaisons permettant la dissociation du composé de la particule sous l'effet d'une perturbation physico-chimique où cette perturbation est préférentiellement telle qu'elle ne modifie pas de manière significative ou qu'elle modifie de manière non significative l'une au moins des propriétés de la NANOF telle que sa taille, sa distribution en taille, sa propriété ferrimagnétique ou ferromagnétique, sa composition, ou sa structure cristallographique.

Dans un mode de réalisation de l'invention, une modification significative d'une propriété de la NANOF peut être définie comme étant: (i), une augmentation ou une diminution de la taille des NANOF de plus de 100 nm, 1 μ m, ou 10 μ m, (ii), une augmentation ou une diminution de la distribution en taille des NANOF de plus de 100 nm, 1 μ m, ou 10 μ m, (iii), un changement de propriété magnétique dû par exemple au passage de la NANOF de nanoparticule avec un seul domaine magnétique à une nanoparticule avec plusieurs domaines magnétiques, pouvant notamment entraîner la perte de propriété ferrimagnétique ou ferromagnétique de la NANOF, (iv), un changement de composition tel que le passage d'une nanoparticule composée d'oxyde de fer à une nanoparticule ne contenant plus que du fer ou de l'oxygène, ou (v), une modification de la structure cristallographique telle que le passage de la nanoparticule d'un état cristallisé, pouvant être caractérisé par la présence d'au moins deux plans cristallins dans la nanoparticule à un état amorphe, pouvant être caractérisé par l'absence de plans cristallins dans la nanoparticule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, une modification non significative d'une propriété de la NANOF peut être définie comme étant: (i), une augmentation ou une diminution de la taille des NANOF de moins de 100 nm, 1 μ m, ou 10 μ m, (ii), une augmentation ou une diminution de la distribution en taille des NANOF de moins de 100 nm, 1 μ m, ou 10 μ m, (iii), une absence de changement de propriété magnétique dû par exemple au passage de la NANOF de nanoparticule avec un seul domaine magnétique à une nanoparticule avec plusieurs domaines magnétiques, pouvant notamment entraîner la perte de propriété ferrimagnétique ou ferromagnétique de la NANOF, (iv), une absence de changement de composition tel que le passage d'une nanoparticule composée d'oxyde de fer à une nanoparticule ne contenant plus que du fer ou de l'oxygène, ou (v), une absence de modification de la structure cristallographique telle que le passage de la nanoparticule d'un état cristallisé, pouvant être caractérisé par la présence d'au moins deux plans cristallins dans la nanoparticule à un état amorphe, pouvant être caractérisé par l'absence de plans cristallins dans la nanoparticule.

De préférence, les liaisons faibles selon l'invention sont des liaisons hydrogènes, des liaisons qui sont dues à des forces de Van der Waals, de London, de Debye, des forces intermoléculaires

ou inter-nanoparticulaires, ou des interactions hydrophobes ou hydrophiles ou de nature électrostatique.

Dans un mode de réalisation de l'invention, les liaisons faibles peuvent être associées à l'adsorption du composé sur la NANOF.

- 5 Dans un mode de réalisation de l'invention, les liaisons faibles peuvent être caractérisées par une constante de dissociation, K_D , qui est de préférence inférieure à 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,1, 0,05, 0,01, 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , ou 10^{-9} .

- Dans un mode de réalisation de l'invention, la liaison entre le composé et la NANOF est plus forte lorsque la particule est inactivée que lorsqu'elle est activée. Cette propriété peut
10 notamment être observée lorsque le fonctionnement de la particule fait intervenir une dissociation du composé de la NANOF.

- Dans un mode de réalisation de l'invention, le composé n'est pas lié à la NANOF par des liaisons fortes, telles que des liaisons covalentes, ioniques, ou par des liaisons qui empêchent une dissociation du composé de la NANOF. Cette propriété est préférentiellement observée
15 lorsque le fonctionnement de la particule fait intervenir une dissociation du composé de la NANOF et/ou une modification chimique du composé.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le composé est associé à la NANOF par des liaisons fortes. Cette situation est préférentiellement rencontrée lorsque le fonctionnement de la particule fait intervenir une modification chimique du composé.

- 20 Les liaisons fortes sont préférentiellement des liaisons empêchant la dissociation du composé de la NANOF sous l'effet d'une perturbation physico-chimique où cette perturbation est préférentiellement telle qu'elle ne modifie pas de manière significative l'une au moins des propriétés de la NANOF telle que sa taille, sa distribution en taille, sa propriété ferrimagnétique ou ferromagnétique, sa composition ou sa structure cristallographique.

- 25 Dans un mode de réalisation, les liaisons fortes sont les liaisons qui ne sont pas faibles. De préférence, les liaisons fortes selon l'invention sont des liaisons covalentes, métalliques ou ioniques.

- Dans un mode de réalisation de l'invention, les liaisons fortes peuvent être caractérisées par une constante de dissociation, K_D , qui est de préférence supérieure à 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,1, 0,05, 0,01, 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , ou 10^{-9} .
30

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule contient un composé qui est une substance luminescente.

La substance luminescente selon l'invention possède au moins une propriété de luminescence.

Une propriété de luminescence est définie ici comme étant une intensité, une longueur d'onde de luminescence, une intensité, une longueur d'onde d'absorption, un temps de vie de luminescence, ou une anisotropie de luminescence, qui est préférentiellement mesurable. La propriété de luminescence peut être attribuée à la substance luminescente ou à la particule.

- 5 Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente possède au moins une propriété de luminescence qui varie, préférentiellement dans les conditions de fonctionnement de la particule.

Une variation de luminescence est définie ici comme étant une variation d'au moins une propriété de luminescence. Elle peut être attribuée à la substance luminescente ou à la particule
10 et peut être une augmentation ou une diminution, préférentiellement une augmentation, d'au moins une propriété de luminescence de la particule ou de la substance luminescente.

Une propriété de luminescence peut varier au cours du temps, en fonction de la position spatiale de la particule ou de la NANOF, lors d'une variation de l'environnement de la particule ou de la NANOF, suite à l'application du rayonnement, de la dissociation de la substance
15 luminescente de la NANOF et/ou de la modification chimique de la substance luminescente.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation de luminescence est une augmentation continue de la luminescence. Elle se produit préférentiellement au cours du temps, sur un intervalle de temps de préférence supérieur à 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} , 1, 2, 5, ou 10 secondes, 1, 2, 5, 10, 30, ou 45 minutes, 1, 2, 5, 10, ou 17 heures, 1, 2, 5, 10,
20 15, ou 30 jours, 1, 2, 5, ou 10 mois, 1, 2, 5, 10, 25, 50, ou 100 ans. Elle n'est préférentiellement pas une succession d'au moins 1, 10, 10^2 , 10^3 , 10^6 , 10^9 , 10^{20} , ou 10^{40} augmentation(s) et diminution(s) de luminescence pouvant notamment se produire lors d'interactions aléatoires de la substance luminescente.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation de luminescence (ΔL) au cours du
25 temps est caractérisée par une pente à l'origine, $\Delta L/\delta t$, où δt représente une durée ayant pour origine le début de la variation de luminescence, qui est préférentiellement déterminée pendant les premières secondes ou minutes suivant la perturbation physico-chimique exercée sur la particule.

Une propriété de luminescence ou sa variation peut être déterminée autour, à la surface ou dans
30 la particule ou NANOF sur une distance mesurée à partir du centre de la particule ou NANOF de préférence inférieure à 1 m, 1 dm, 1 cm, 1 mm, 1 μ m, 100 nm, ou 10 nm.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation de luminescence est déterminée sur une zone permettant de détecter la variation de luminescence, c'est à dire une zone contenant un nombre suffisant de particules, de préférence supérieur à 1, 10, 100, 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 ,

10^9 , 10^{10} , ou 10^{11} particules ou particules par unité de volume, notamment particules par m^3 , cm^3 , mm^3 , ou μm^3 .

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente possède au moins une propriété de luminescence qui est mesurable au cours du temps et/ou en fonction de la position de la particule ou de la NANOF, ou subit une variation d'au moins l'une de ses propriétés qui est mesurable au cours du temps et/ou en fonction de la position de la particule ou de la NANOF. Dans un autre mode de réalisation de l'invention, certains paramètres comme le temps de mesure, les taille et masse des substances luminescentes et des NANOF, le type de liaison entre substance luminescente et NANOF, ou les propriétés de l'environnement de la particule telle que sa viscosité, sont optimisés pour permettre la mesure d'une variation de luminescence de la substance luminescente.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente possède au moins l'une des propriétés suivantes: (i), une petite taille ou une petite masse, préférentiellement inférieure(s) à un dixième, un centième, ou un millième de celle(s) des NANOF, pouvant notamment permettre de favoriser son décrochage des NANOF et/ou sa diffusion dans l'environnement de la particule, (ii), une charge négative, préférentiellement inférieure à -1, -10, -20, ou -50 mV, une charge positive, préférentiellement supérieure à 1, 10, 20, ou 50 mV, une charge neutre, ou une charge opposée à celle des NANOF pouvant notamment favoriser la liaison entre la substance luminescente et la NANOF, (iii), une liaison avec les NANOF permettant sa dissociation des NANOF dans les conditions de fonctionnement de la particule, (iv), une cristallinité révélée par la présence d'au moins deux plans cristallins, ou (v), une absorption non nulle à des longueurs d'onde où le milieu biologique absorbe peu, ou une absorption non nulle entre 20 nm et 2 μm ou entre 600 et 1200 nm.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente préférée est celle qui permet d'atteindre la plus grande atténuation de l'intensité de luminescence et/ou le plus petit temps de vie de luminescence lorsque la particule est inactivée.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescence préférée est celle qui permet le transfert d'énergie ou de particule le plus important avec la NANOF lorsque la particule est inactivée ou activée.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente préférée est celle qui permet d'induire une variation de luminescence qui est : (i), la plus importante possible et/ou mesurable lorsque la particule passe d'un état inactivé à un état activée, ou (ii), mesurable lorsque la particule est exposée à un rayonnement de faible intensité, de faible énergie et/ou à une variation de l'environnement de la particule de faible amplitude, telle qu'une variation de

température de moins de 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , 10, 5, 1, 0,5, ou 0,1 °C ou une variation de pH de moins de 100, 50, 20, 14, 10, 8, 6, 4, 2, 1, 0,5, 0,1, ou 0,01 unités de pH.

Dans un mode de réalisation de l'invention, au moins une propriété de luminescence de la substance luminescente associée à la nanoparticule d'oxyde de fer diffère de celle de la substance luminescente seule. Cette différence est plus facilement observable et mesurable lorsque la particule est inactivée ou activée, préférentiellement inactivée, que lorsque la particule passe de l'état inactivé à l'état activé ou de l'état activé à l'état inactivé.

Dans un mode de réalisation de l'invention, l'intensité de luminescence de la substance luminescente associée à la nanoparticule d'oxyde de fer est atténuée par la nanoparticule d'oxyde de fer par rapport à l'intensité de luminescence de la substance luminescente seule. Cette atténuation est préférentiellement observée et mesurable lorsque la particule est inactivée. Dans un mode de réalisation de l'invention, l'atténuation de l'intensité de luminescence de la substance luminescente est déterminée en mesurant le rapport I_L/I_{NL} entre l'intensité de luminescence de la substance luminescente liée à la NANOF, I_L , et l'intensité de luminescence de la substance luminescente seule, non liée à la NANOF, I_{NL} . Ce rapport, notamment I_L , est préférentiellement mesuré lorsque la particule est inactivée.

Dans un mode de réalisation de l'invention, I_L et I_{NL} sont mesurées dans les mêmes conditions, notamment en ce qui concerne les paramètres d'excitation et de détection de la luminescence, ainsi que la concentration de la substance luminescente, utilisés lors des mesures.

Dans un mode de réalisation de l'invention, l'intensité de luminescence de la substance luminescente liée à la NANOF est atténuée lorsque I_L/I_{NL} est inférieur à 1, préférentiellement inférieur à 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01, 0,005, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , ou 10^{-9} .

Dans un mode de réalisation de l'invention, le temps de vie de luminescence de la substance luminescente associée à la nanoparticule d'oxyde de fer est modifié, atténué, ou augmenté, préférentiellement augmenté, par la nanoparticule d'oxyde de fer par rapport au temps de vie de luminescence de la substance luminescente seule. Dans le cas où le temps de vie de luminescence est augmenté par la nanoparticule d'oxyde de fer, il s'agit d'une situation inhabituelle et différente de celle habituellement rencontrée dans le cas d'un transfert de Förster, devant mener à une diminution du temps de vie.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation du temps de vie de luminescence de la substance luminescente est déterminée en mesurant le rapport T_A/T_L entre le temps de vie de luminescence de la substance luminescente liée à la NANOF, T_A , et le temps de vie de luminescence de la substance luminescente seule, non liée à la NANOF, T_L .

Dans un mode de réalisation de l'invention, T_A et T_L sont mesurés dans les mêmes conditions, notamment en ce qui concerne les paramètres d'excitation et de détection de la luminescence ainsi que la concentration de la substance luminescente utilisée lors des mesures.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le temps de vie de luminescente de la substance luminescente liée à la NANOF est diminué, notamment par la présence de la NANOF, lorsque
 5 T_A/T_L est inférieur à 1, préférentiellement inférieur à 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01, 0,005, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , ou 10^{-9} .

Dans un mode de réalisation de l'invention, le temps de vie de luminescence de la substance luminescente liée à la NANOF est augmenté, notamment par la présence de la NANOF, lorsque
 10 T_A/T_L est supérieur à 1, préférentiellement supérieur à 2, 4, 8, 10, 25, 50, 100, 1000, 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , ou 10^9 .

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation d'au moins une propriété de luminescence de la substance luminescente associée à la NANOF par rapport à la substance luminescente seule se produit lorsque la substance luminescente possède au moins une des propriétés suivantes: (i), une énergie ou particule transférée vers la NANOF ou reçue de la NANOF, cet échange d'énergie ou de particule pouvant être en particulier un transfert de Förster ou de Dexter, (ii), une distance séparatrice la séparant de la NANOF de préférence inférieure à 1 cm, 1 μ m, 500 nm, 100 nm, 50 nm, 25 nm, 10 nm, ou 5 nm, ou une distance séparatrice de préférence inférieure à 100 fois, 100 fois, 50 fois, 20 fois, 10 fois, 2 fois, ou 1
 20 fois la distance de Förster, où la distance de Förster est de préférence comprise entre 0,1 et 50 nm, 0,5 et 20 nm, ou 1 et 10 nm, (iii), les caractéristiques d'un donneur ou d'un accepteur dans la terminologie utilisée pour décrire le transfert de Förster, (iv), la capacité d'émettre de la lumière à la(aux) longueur(s) d'onde où la NANOF absorbe de la lumière, (v), un temps de vie ou une intensité de luminescence, mesuré lorsque la substance luminescente est seule, qui est
 25 suffisamment différent de celui de la substance luminescente liée à la NANOF pour que la variation du temps de vie ou de l'intensité de luminescence puisse être mesurée, ou (vi), un temps de vie de la substance luminescente seule supérieur à 0,5 ns, 1 ns, 5 ns, 10 ns, 100 ns, 1 μ s, 10 μ s, 100 μ s, ou 1 ms.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation d'au moins une propriété de
 30 luminescence de la substance luminescente associée à la NANOF par rapport à la substance luminescente seule se produit lorsque la NANOF possède au moins l'une des propriétés suivantes: (i), une absorption, un coefficient d'absorption, un index d'absorption, ou un coefficient d'extinction significatif(s), non nul(s), préférentiellement significatif(s) à la(aux) longueur(s) d'onde d'émission de la substance luminescente, plus préférentiellement

significatif(s) entre 10 et 5000 nm, 20 et 2000 nm, ou 100 et 1500 nm, (ii), un matériau contenu dans son cœur et/ou revêtement qui absorbe à la(aux) longueur(s) d'onde d'émission de la substance luminescente, (iii), une taille plus importante que celle des SPION, supérieure à 0,1 nm, 1 nm, préférentiellement supérieure à 10 nm, plus préférentiellement supérieure à 20 nm, 5 pouvant notamment permettre d'accroître son absorption, son coefficient d'absorption, son index d'absorption, ou son coefficient d'extinction, qui peut(peuvent) augmenter avec la taille des NANOF, (iv), des propriétés ferrimagnétiques ou ferromagnétiques pouvant également permettre d'accroître l'absorption, le coefficient d'absorption, l'index d'absorption, ou le coefficient d'extinction des NANOF et/ou de favoriser le couplage entre les dipôles et/ou 10 moments magnétiques des NANOF et ceux des substances luminescentes, ou (v), une bonne cristallinité, pouvant notamment permettre de favoriser un transfert d'énergie, de particules, préférentiellement d'électrons, entre la NANOF et la substance luminescente.

Dans un mode de réalisation de l'invention, l'atténuation de l'intensité de luminescence et/ou variation du temps de vie de luminescence de la substance luminescente associée à la NANOF 15 par rapport à la substance luminescente seule se produit(sent) lorsque l'intensité de luminescence de la substance luminescente et le coefficient d'extinction molaire de la NANOF ainsi que la fonction de recouvrement qui leur est associée est non nulle, préférentiellement maximisée.

Dans un mode de réalisation de l'invention, l'atténuation de l'intensité de luminescence et/ou 20 la variation du temps de vie de luminescence de la substance luminescente associée à la NANOF par rapport à la substance luminescente seule est due à la présence d'atomes d'oxygènes ou de fer dans ou à la surface de la NANOF.

Dans un mode de réalisation de l'invention, l'atténuation de l'intensité de luminescence et/ou variation du temps de vie de luminescence de la substance luminescente associée à la NANOF 25 par rapport à la substance luminescente seule est observée lorsque la particule est activée ou inactivée. Par ailleurs, elle peut être plus prononcée lorsque la particule est inactivée que lorsqu'elle est activée.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la dissociation de la substance luminescente de la nanoparticule d'oxyde de fer et/ou la modification chimique de cette substance est liée à une 30 variation de luminescence de la substance luminescente. Cela se produit préférentiellement lorsque la particule passe de l'état inactivé à l'état activé.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la dissociation de la substance luminescente de la NANOF supprime ou diminue l'atténuation de l'intensité de luminescence, ce qui résulte en une augmentation de l'intensité de luminescence.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la dissociation de la substance luminescente de la nanoparticule d'oxyde de fer et/ou la modification chimique de la substance luminescente, résulte en une variation de luminescence de la substance luminescente qui est due à : (i), un changement (début, augmentation, arrêt ou diminution) d'un transfert d'énergie ou de particule
5 entre la substance luminescente et la NANOF, (ii), une modification de la distance séparant la substance luminescente de la NANOF, ou (iii), un changement de composition chimique ou de structure de la substance luminescence.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la dissociation de la substance luminescente de la NANOF et/ou la modification chimique de la substance luminescente à l'origine de la variation
10 de luminescence est : (i), réversible en impliquant la dissociation de la substance luminescente de la NANOF et/ou sa modification chimique suivi d'un retour à l'état initial de la particule obtenu lorsque la particule est inactivée, (ii), irréversible impliquant la dissociation de la substance luminescente de la NANOF et/ou sa modification chimique sans retour de la substance luminescente dans son état initial, (iii), totale en impliquant l'ensemble de la
15 substance luminescente, (iv), partielle en impliquant une partie, un groupement chimique, un atome de la substance luminescente, (v), associée à un mouvement, une translation, une oscillation, ou une vibration de la substance luminescente ou de la NANOF, (vi), associée à un couplage entre un champ électromagnétique, la substance luminescente et la NANOF, (vii), due à une variation de l'environnement de la particule, ou (viii), suivie de la diffusion de la
20 substance luminescente ou d'une partie de cette substance dans l'environnement de la particule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la dissociation de la substance luminescente de la NANOF et/ou la modification chimique de cette substance est liée à une variation locale de luminescence, se produisant lorsque la substance luminescente a diffusé à une distance, mesurée à partir du centre de la NANOF, de préférence inférieure à 100 fois, 10 fois, ou 1 fois
25 la taille de la NANOF. Cette variation locale de luminescence est habituellement mesurée pendant un temps de mesure inférieur à 100, 10, ou 1 minute.

Dans un mode de réalisation de l'invention, au moins un paramètre lié à la dissociation de la substance luminescente et/ou à la modification chimique de cette substance tel que le nombre de substances luminescentes dissociées et/ou diffusantes, leur vitesse, ou temps de diffusion
30 et/ou de dissociation, peut(peuvent) être mesuré(s). Il peut alors être possible d'établir une relation entre ΔL , $\Delta L/\delta t$ et au moins l'un de ces paramètres.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation de l'environnement de la particule est liée à une variation de luminescence de la substance luminescente. Cela se produit préférentiellement lorsque la particule passe de l'état inactivé à l'état activé.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation de l'environnement de la particule et/ou la pente à l'origine de cette variation peut(peuvent) être mesurée(s), avant, après, ou pendant, de préférence pendant, le fonctionnement de la particule. Il peut alors être possible d'établir une relation entre ΔL , $\Delta L/\delta t$ et la variation de cet environnement tel qu'une variation de pH, température, potentiel d'oxydo-réduction, composition chimique de cet environnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation du rayonnement auquel est exposée la particule selon l'invention, telle qu'une variation de l'intensité, de l'énergie, de la fréquence d'un rayonnement électromagnétique tel qu'un champ magnétique (alternatif ou non), ou d'un rayonnement ionisant, est liée à une variation de luminescence de la substance luminescente.

Cela se produit préférentiellement lorsque la particule passe de l'état inactivé à l'état activé.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation du rayonnement auquel est exposée la particule selon l'invention et/ou la pente à l'origine de cette variation peut(peuvent) être mesurée(s), avant, après, ou pendant, préférentiellement pendant, le fonctionnement de la particule. Il peut alors être possible d'établir une relation entre ΔL , $\Delta L/\delta t$, et la variation de ce rayonnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation de luminescence de la sonde selon l'invention se produit lorsque ladite sonde rentre en interaction, par exemple en contact ou en collision, avec une substance, synthétique ou non synthétique. Cela peut notamment se produire lors de l'internalisation de ladite sonde dans une cellule, notamment par l'application d'un rayonnement, préférentiellement un rayonnement ionisant ou un champ magnétique.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la variation de luminescence de la substance luminescente associée à la nanoparticule d'oxyde de fer est différente de celle de la substance luminescente seule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente possède au moins une propriété de luminescence ou subit une variation d'au moins l'une de ces propriétés qui est différente de celle de la substance luminescente seule, c'est-à-dire non liée ou non associée à la particule selon l'invention.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule selon l'invention induit une variation d'au moins une propriété de luminescence de la substance luminescente qui est différente de celle induite par cette même perturbation sur la substance luminescente seule. Par exemple, une augmentation de température de l'environnement de la particule ou l'application d'un champ magnétique alternatif sur la particule peut induire la dissociation de la substance luminescente de la NANOF et/ou une modification chimique de la substance luminescente induisant une variation (une augmentation

ou une diminution) de luminescence de la substance luminescente associée à la NANOF qui est différente de la variation de luminescence de la substance luminescente seule, non associée à la NANOF, exposée à cette même augmentation de température ou à ce même champ magnétique alternatif.

- 5 Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente associée à la particule est un luminophore, un chromophore ou un fluorophore.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule induit une augmentation ou diminution de luminescence qui est 10 , 10^2 , 10^3 , 10^6 , 10^{10} , ou 10^{20} fois plus importante ou plus faible lorsque la substance luminescente est associée à la

- 10 NANOF que lorsque la substance luminescente est seule, non associée à la NANOF..

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la substance luminescente associée à la NANOF induit une augmentation de luminescence alors que cette même perturbation induit une diminution de luminescence lorsqu'elle est exercée sur la substance luminescente seule, non associée à la NANOF.

- 15 Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la substance luminescente associée à la NANOF induit une diminution de luminescence alors que cette même perturbation induit une augmentation de luminescence lorsqu'elle est exercée sur la substance luminescente seule, non associée à la NANOF.

- 20 Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la substance luminescente associée à la NANOF induit une variation de luminescence, préférentiellement d'au moins 10^{-10} , 10^{-5} , 10^{-1} , 1 , 10 , 25 , 50 , 70 , ou 90% , alors que cette même perturbation n'induit pas de variation de luminescence, préférentiellement une variation de luminescence de moins de 10^{-10} , 10^{-5} , 10^{-1} , 1 , 10 , 25 , 50 , 70 , ou 90% , lorsqu'elle est exercée sur la substance luminescente seule, non associée à la NANOF. Dans ce cas, le pourcentage de
25 variation de luminescence peut être défini comme étant le rapport entre la luminescence, mesurée avant et après application de la perturbation.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente contient au moins un atome ou groupement chimique luminescent, une molécule luminescente, un matériau luminescent, ou un monomère ou polymère luminescent.

- 30 Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente comprend ou est constituée d'au moins une substance sélectionnée dans le groupe constitué de :

ADN luminescent, ARN luminescent, Alexa fluor, Alexa fluor 350, 405, 430, 488, 500, 514, 532, 546, 548, 555, 568, 594, 610, 633, 647, 660, 669, 680, 700, 750 ou 790, une ATTO, ATTO 590, 594, 610, 611x, 620, 633, 635, 637, 647, 647N, 655, 655, 665, 680, 700, 725, 740, une

Allophycocyanine (APC), une APC conjuguée, une Cy, une APC-Cy7, une aminocoumarin, une allophycocyanin (APC), APC-Cy7, une acridine orange, un 7-AAD, une azurite, AmCyan1, AcGFP1, Azami-Green, AsRed2, aminocoumarin, allophycocyanin, bromure d'éthidium bore-dipyrométhène BODIPY, BODIPY TMR, BODIPY 581/591, BODIPY TR, BODIPY-FL, BODIPY 630/650 ou 650/665, bromure d'Ethidium, une cellule luminescente, calcéine, coumarine, une cyanine Cy, Cy 2, Cy3, Cy3B, Cy 3,5, Cy 5, Cy 5,5 ou Cy 7, Cy3,5, un colorant organique, un cascade blue chromomycin A3, un cerulean, un CyPet, un "DyLight Fluor", DyLight 350, 405, 488, 549, 550, 594, 633, 649, 650, 680, 750, 755 ou 800, DRAQ5, DAPI, DCFH, DHR, dKeima-Red, Dronpa-Green, DsRed monomer, DsRed2 ("RFP"), une enzyme luminescente, une EBFP, EBFP2, ECFP, Emerald, EYFP, E2-Crimson, une fluorescéine, FluoProbe, un FluoProbe 594, 647H, 682, 752, 782, FluorX, FAM, Fluorescein FITC, un GFPuv, un hydroxycoumarin, un hoechst 33342 ou 33258, HcRed1, un HyPer, hydroxycoumarin, Hex, intercalant de l'ADN luminescent, l'iode de propidium, l'Indo-1 Fluo-3, un J-Red, un Kusabira-Orange, Katushka (TurboFP635), une luciphérase, un lipide luminescent, un lanthanide trivalent Ln^{3+} , Lucifer jaune, Lissamine Rhodamine B LDS 751, un lanthanide (Lanthane, Cérium, Praséodyme, Néodyme, Prométhium, Samarium, Europium, Gadolinium, Terbium, Dysprosium, Holmium, Erbium, Thulium, Ytterbium, Lutécium), une megastokes, methoxycoumarin, mithramycin, un marqueur de fonctions cellulaires, une mCFP, mKeima-Red, mTFP1 (Teal), Midoriishi-Cyan, mCitrine, mBanana, mOrange, mOrange2, mKO, mStrawberry, mRFP1, mCherry, mKate2, mKate (TagFP635), mPlum, mRaspberry, mNeptune, Monochlorobimane, methoxycoumarin, un nanocristal semiconducteur, NBD R-Phycoerythrin (PE), une protéine luminescente, fluorescente verte, rouge ou jaune, P3, Pacific Blue, Pacific Orange, PE-Cy5, PE-Cy7, PerCP, PhiYFP, PhiYFP-m, red 613, r-phycoerythrin (PE), rhodamine red-x, rox, red 613, rhodamine, la rhodamine B, SNARF, SYTOX, SYTOX Blue, SYTOX Green, SYTOX Orange, S65A, S65C, S65L, S65T, une substance luminescente contenue dans un kit d'étiquetage par anticorps tel un "Biotin Tag", "Fluoro Tag", "Immuno Probe" ou "Mix-n-Stain", un tissu luminescent, un Texas Red, une TOTO-3, TO-PRO-3, TruRed, TRITC X-Rhodamine, TOTO-1, TO-PRO-1, TO-PRO: Cyanine : Monomer, Thiazole Orange, TOTO-3, TO-PRO-3, T-Sapphire, TagBFP, TagCFP, TurboGFP, TagGFP, TagGFP2, Topaz, TurboYFP, TurboRFP, tdTomato DsRed-Express2, TagRFP, TurboFP602, TurboFP635, TRITC, Tamara, Texas Red, TruRed, Venus, YOYO-1 Y66H, Y66F, Y66W, YPet, ZsGreen1, ZsYellow1, et une substance dérivée des substances luminescentes précitées ou ayant au moins un atome, une molécule, un groupement chimique luminescent en commun avec les substances luminescentes précitées.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention est associée à une substance luminescente qui possède au moins une fonction chimique sélectionnée dans le groupe constitué des fonctions acide carboxylique, phosphorique, sulfonique esters, amide, cétone, alcool, phénol, thiol, amine, éther, sulfure, anhydride d'acide, halogénure d'acyle, amidine, nitrile, hydroperoxyde, imine, aldéhyde, peroxyde, et d'un dérivé acide, basique, oxydé, réduit, neutre, ou chargé positivement ou négativement de ces fonctions.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescence possède au moins une fonction chimique qui permet une liaison faible ou forte avec la nanoparticule d'oxyde de fer, telle qu'une fonction acide carboxylique.

10 Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention est associée à un composé pharmaceutique.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention est associée à un composé pharmaceutique qui possède au moins une fonction chimique sélectionnée dans le groupe constitué des fonctions acide carboxylique, phosphorique, sulfonique esters, amide, cétone, alcool, phénol, thiol, amine, éther, sulfure, anhydride d'acide, halogénure d'acyle, amidine, nitrile, hydroperoxyde, imine, aldéhyde, peroxyde, et d'un dérivé acide, basique, oxydé, réduit, neutre, ou chargé positivement ou négativement de ces fonctions.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le composé pharmaceutique possède une fonction chimique qui permet une liaison faible ou forte avec la nanoparticule d'oxyde de fer, telle qu'une fonction acide carboxylique.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le composé pharmaceutique est une substance thérapeutique, un agent de diagnostic, de contraste, un composé anti-cancéreux, antibactérien, anti-inflammatoire, un vaccin, un anesthésiant, un analgésique, un antibiotique, un antidépresseur, un antidiurétique, un antihistaminique, un antihypertenseur, un antipyrétique, un antiviral, un antitussif, un anxiolytique, un bronchodilatateur, un diurétique, un laxatif, un psychotrope, un sédatif, ou un vasopresseur.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le composé pharmaceutique contient un principe actif et éventuellement un excipient.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le composé pharmaceutique lorsqu'il est associé à la particule a une plus grande efficacité et/ou une moindre toxicité que lorsqu'il est seul. Cela peut être dû au fait qu'il peut se dissocier de la particule et être activé de manière contrôlée, par exemple lorsqu'il a atteint l'organisme ou la partie de l'organisme souhaité telle qu'une tumeur ou une cellule tumorale.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule conduit à la dissociation du composé pharmaceutique de la nanoparticule d'oxyde de fer.

5 Dans un mode de réalisation, la dissociation du composé pharmaceutique de la nanoparticule est contrôlée par l'application d'une perturbation physico-chimique. Cela peut notamment permettre d'améliorer l'efficacité et/ou de réduire la toxicité d'un traitement thérapeutique ou d'un diagnostic.

10 Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique est exercée sur la particule par un rayonnement, préférentiellement un rayonnement ionisant ou un champ magnétique, plus préférentiellement un champ magnétique alternatif.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le rayonnement est tel qu'il modifie de manière significative la NANOF, tel que cela est défini dans l'invention.

15 Dans un autre mode de réalisation de l'invention, le rayonnement est un champ magnétique continu, d'intensité préférentiellement comprise entre 0,01 mT et 100 T, 0,1 mT et 10 T, ou 1 mT et 1 T.

20 Dans un mode de réalisation de l'invention, le rayonnement est un champ magnétique alternatif d'intensité préférentiellement comprise entre 0,01 mT et 100 T, 0,1 mT et 10 T, ou 1 mT et 1 T et de fréquence préférentiellement comprise entre 0,001 Hz et 1000 MHz, 0,01 Hz et 100 MHz, 0,1 Hz et 10 MHz, 1 Hz et 1 MHz, 10 Hz et 500 kHz, 100 Hz et 500 kHz, 1 kHz et 250 kHz, ou 10 kHz et 200 kHz..

Dans un mode de réalisation de l'invention, le rayonnement est un rayonnement ionisant d'énergie supérieure à 10^{-15} , 10^{-14} , 10^{-13} , 10^{-12} , 10^{-11} , 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} , 1, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} , 10^{14} , ou 10^{15} Gray (Gy).

25 Dans un mode de réalisation de l'invention, le rayonnement est un rayonnement ionisant d'énergie inférieure à 10^{-15} , 10^{-14} , 10^{-13} , 10^{-12} , 10^{-11} , 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} , 1, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} , 10^{14} , ou 10^{15} Gray (Gy).

30 Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule selon l'invention est due à ou associée à une variation de l'environnement de la particule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est une variation de pH de moins de 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,01, 0,005, 0,001,

10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} unités de pH de cet environnement ou d'au moins une substance contenue dans cet environnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est une variation
 5 de pH de plus de 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,01, 0,005, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} unités de pH de cet environnement ou d'au moins une substance contenue dans cet environnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est une variation
 10 de température de moins de 10^{10} , 10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 500, 250, 150, 100, 50, 40, 20, 30, 10, 5, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} °C de cet environnement ou d'au moins une substance contenue dans cet environnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est une variation
 15 de température de plus de 10^{10} , 10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 500, 250, 150, 100, 50, 40, 20, 30, 10, 5, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} °C de cet environnement ou d'au moins une substance contenue dans cet environnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est une variation
 20 de potentiel standard de moins de 10^3 , 500, 100, 10, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,01, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} Volt de cet environnement ou d'au moins une substance contenue dans cet environnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est une variation
 25 de potentiel standard de moins de 10^3 , 500, 100, 10, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,01, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} Volt de cet environnement ou d'au moins une substance contenue dans cet environnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est une variation
 30 de la concentration d'au moins une substance de cet environnement de plus de 10^{10} , 10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 500, 250, 150, 100, 50, 40, 20, 30, 10, 5, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} mole par litre, micromole par litre, nanomole par litre, mole par millilitre, micromole par millilitre, nanomole par millilitre, mole par mètre cube, mole par décimètre cube, mole par centimètre cube, ou mole par millimètre cube.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est une variation de composition chimique d'au moins une substance de cet environnement de moins de 10^{10} , 10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 500, 250, 150, 100, 50, 40, 20, 30, 10, 5, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 5 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} mole par litre, micromole par litre, nanomole par litre, mole par millilitre, micromole par millilitre, nanomole par millilitre, mole par mètre cube, mole par décimètre cube, mole par centimètre cube, ou mole par millimètre cube.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la 10 particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est un changement d'au moins 1, 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 500, 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , ou 10^{10} substance(s) de cet environnement où ce changement peut être une modification chimique ou structurale et/ou l'apparition ou la disparition de substance(s) de cet environnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la 15 particule ou la variation de l'environnement de la particule selon l'invention est la variation de composition chimique de moins de 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 500, 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , ou 10^{10} substances de cet environnement où cette variation peut être une modification chimique ou structurale et/ou l'apparition ou la disparition de substance(s) de cet environnement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la perturbation physico-chimique exercée sur la 20 particule induit un changement d'état de la particule qui peut être défini comme étant soit: (i), une augmentation ou une diminution de pH de la particule de plus ou moins 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,01, 0,005, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} unités de pH, (ii), une augmentation ou une diminution de température de la 25 particule de plus ou moins 10^{10} , 10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 500, 250, 150, 100, 50, 40, 20, 30, 10, 5, 1, 0,1, 0,01, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} °C, (iii), une augmentation ou une diminution de charge de la particule de plus ou moins 10^3 , 500, 100, 10, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,01, 0,001, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , ou 10^{-13} Volt, ou (iv), une augmentation ou une diminution du nombre d'atomes contenu 30 dans la particule de plus ou moins 10^{100} , 10^{50} , 10^{20} , 10^{10} , 10^3 , 10, 5, ou 1 atome(s).

La présente invention concerne également un procédé *in vitro* de détection de variation de luminescence, comprenant une étape de détection de variation de luminescence de la particule selon l'invention.

Dans un mode de réalisation du procédé *in vitro* de détection de variation de luminescence selon l'invention, la variation de luminescence est mesurée durant un intervalle de temps inférieur à une heure, une minute, ou une seconde.

5 Dans un autre mode de réalisation du procédé *in vitro* de détection de variation de luminescence selon l'invention, la variation de luminescence est mesurée localement autour de la particule, de préférence à une distance mesurée à partir du centre de la particule inférieure à 1 cm^3 , 1 mm^3 , ou $0,1\text{ mm}^3$.

10 Dans un autre mode de réalisation du procédé *in vitro* de détection de variation de luminescence selon l'invention, la variation de luminescence est une augmentation continue de luminescence de la substance luminescente, préférentiellement durant au moins une seconde, une minute, ou une heure.

Dans un autre mode de réalisation du procédé *in vitro* de détection de variation de luminescence selon l'invention, on détecte la dissociation de la substance luminescente de la NANOF.

15 Dans un autre mode de réalisation de l'invention, le procédé de détection de la variation de luminescence selon l'invention est appliqué pour détecter au moins un paramètre physiologique, préférentiellement la température, le pH, l'environnement de la nanoparticule d'oxyde de fer.

Dans un autre mode de réalisation, le procédé de détection de la variation de luminescence selon l'invention est appliqué pour détecter un rayonnement tel que défini ci-dessus.

20 Dans un autre mode de réalisation du procédé *in vitro* de détection de variation de luminescence selon l'invention, l'intensité de luminescence de la particule selon l'invention est augmentée par application d'un rayonnement tel que défini ci-dessus.

25 Dans un autre mode de réalisation du procédé *in vitro* de détection de variation de luminescence selon l'invention, l'intensité de luminescence de la substance luminescente augmente par variation de l'environnement de la particule.

La présente invention concerne également un dispositif comprenant :

- la particule selon l'invention, dans laquelle le composé est une substance luminescente, et
- un système de détection d'une variation de luminescence.

30 De préférence, le dispositif selon l'invention comprend une substance luminescente associée à la particule dont la luminescence est spontanée et un système de détection permettant de mesurer la variation de luminescence de la substance luminescente associée à la particule.

De préférence également, le dispositif selon l'invention comprend une substance luminescente associée à la particule dont la luminescence est induite par une première source d'excitation et

un système de détection permettant de mesurer la variation de luminescence de la substance luminescente associée à la particule.

La première source d'excitation induit la luminescence de la substance luminescente associée à la particule. Elle peut être une source lumineuse, monochromatique ou polychromatique, fonctionnant en continu ou par impulsion. Elle produit préférentiellement une excitation monophotonique ou multiphotonique et émet à une longueur d'onde préférentiellement comprise entre 300 nm et 1500 nm. Elle peut être un laser, tel qu'un laser cristallin, le laser Yag émettant à 1064 nm, un laser à colorant, un laser à gaz, une diode laser, un laser à électrons libres ou un laser à fibre. Elle peut également être une lampe, telle qu'une lampe halogène. Le système de détection est un matériel ou ensemble de matériels permettant de détecter la variation de luminescence de la substance luminescente associée à la particule. Il peut contenir un appareil permettant de sélectionner la longueur d'onde du rayonnement émis par ladite sonde tel qu'un analyseur spectral de longueur d'onde, un spectromètre, un capteur photosensible dont la résistance varie en fonction de l'intensité du rayonnement lumineux capté (cellules photoélectrique, photovoltaïque ou photorésistante par exemple), un scintillateur, un photomultiplicateur, un channeltron, un capteur photographique, un détecteur permettant une analyse dispersive en énergie, un détecteur de rayonnement infrarouge, un photodétecteur.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le dispositif selon l'invention contient également une deuxième source d'excitation, telle qu'une source de rayonnement, préférentiellement une source de rayons ionisants ou, une source de champ magnétique, préférentiellement un champ magnétique alternatif. Cette deuxième source d'excitation peut permettre d'induire une variation de luminescence de la substance luminescente associée à la particule.

Dans un autre mode de réalisation de l'invention, le dispositif selon l'invention comprend un montage optique contenant au moins un matériel permettant de transporter un signal lumineux, comme une fibre optique, un microscope, une lentille, qui peut(peuvent) être utilisé(s) pour transporter la lumière d'une source d'excitation vers la substance luminescente associée à la particule, pour exciter la substance luminescente, pour collecter la luminescence de la substance luminescente et/ou pour transporter la luminescence de la substance luminescente vers le système de détection.

Dans un autre mode de réalisation de l'invention, le dispositif selon l'invention comprend un ou plusieurs système(s) de détection utilisé(s) pour détecter au moins un paramètre de la particule selon l'invention, la présence d'au moins une substance/isotope de faible fréquence/abondance naturelle, les propriétés d'un rayonnement telles que la fréquence, l'intensité, l'énergie d'un rayonnement électromagnétique ou ionisant, un métal de transition,

ou une substance d'intérêt médical. Le système de détection selon l'invention peut contenir un TIMS (spectromètre de masse thermo-ionisation à source solide) ou un ICP-MS (spectromètre de masse couplé à un plasma inductif), un détecteur d'isotope radioactif (appelé aussi un radioisotope) tel qu'un instrument nucléaire détectant des rayonnements, un détecteur à gaz, à 5 semiconducteur, à scintillations inorganiques, à scintillations organiques liquides, ou à scintillations organiques solides, un photomultiplicateur, un compteur Geiger, une sonde de paramètre physiologique, telle qu'une sonde de température ou de pH, ou une sonde de détection du champ magnétique.

10 Dans un mode de réalisation de l'invention, le dispositif selon l'invention permet à la particule selon l'invention de passer d'un état inactivé à un état activé, où cette activation peut notamment se traduire par la variation d'au moins une propriété de luminescence de la substance luminescente.

Dans un mode de réalisation de l'invention, l'activation dudit dispositif se fait lorsque la particule selon l'invention est activée.

15 Dans un mode de réalisation de l'invention, l'activation du dispositif selon l'invention et/ou de la particule selon l'invention se traduit par une variation d'au moins une propriété de luminescence de la particule qui est mesurable en l'absence d'une deuxième source d'excitation et le dispositif n'a alors pas besoin de contenir une deuxième source d'excitation. Cette situation peut par exemple se produire lorsque la variation de l'environnement de la particule induit une 20 variation de luminescence.

Dans un mode de réalisation de l'invention, l'activation du dispositif selon l'invention et/ou de la particule selon l'invention se traduit par une variation d'au moins une propriété de luminescence de la particule qui n'est mesurable qu'en présence d'une deuxième source d'excitation et une deuxième source d'excitation est alors incluse dans le dispositif.

25 Dans un mode de réalisation de l'invention, le dispositif selon l'invention fonctionne suivant l'une au moins des séquences suivantes: la luminescence de la substance luminescente associée à la particule (séquence 1), la variation de luminescence de la substance luminescente associée à la particule (séquence 2), et la détection de cette variation de luminescence (séquence 3). Habituellement, ces séquences sont successives et la séquence 3 a lieu quasi-simultanément aux 30 séquences 1 et/ou 2 puisqu'il est souhaitable de mesurer la variation de luminescente juste après l'excitation de la particule afin d'éviter des pertes de luminescence. La durée séparant la séquence 3 des séquences 1 et/ou 2 peut être de moins d'une minute, préférentiellement de moins d'une seconde, le plus préférentiellement de moins d'un centième de seconde. Il peut par ailleurs arriver que les séquences 1 et 2 aient lieu simultanément, par exemple lorsqu'un

rayonnement induit à la fois la luminescence et la variation de luminescence de la particule, ou que la séquence 1 ait lieu après la séquence 2.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention et/ou le dispositif selon l'invention peut(peuvent) servir à mesurer la présence de la particule et sa distribution spatiale. Dans ce cas, un rayonnement tel que défini ci-dessus peut être utilisé pour accroître la luminescence de la particule et la rendre plus facilement détectable par le dispositif selon l'invention. Par ailleurs, un système optique comprenant une fibre optique que l'on déplace horizontalement au-dessus d'un échantillon contenant la particule selon l'invention peut être utilisé pour mesurer la distribution spatiale de la particule. Il peut alors être possible d'établir une relation entre une variation spatiale de luminescence de la particule et sa distribution dans un milieu donné.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant au moins la particule selon l'invention, éventuellement associée à un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Dans un mode de réalisation préféré de la composition pharmaceutique selon l'invention, le composé est un composé pharmaceutique.

Dans un mode de réalisation préféré de l'invention, la composition pharmaceutique selon l'invention est utilisée dans la prévention ou le traitement d'une maladie, préférentiellement le cancer.

Selon un autre aspect de l'invention, la particule selon l'invention est utilisée à titre de médicament, notamment pour des applications médicales, vétérinaires ou végétales.

La présente invention concerne également une méthode de traitement d'une maladie, notamment le cancer, chez un individu, dans laquelle on administre à l'individu une quantité thérapeutiquement active de la particule selon l'invention.

La présente invention concerne également une composition diagnostique comprenant au moins la particule selon l'invention.

Dans un mode de réalisation préféré de la composition diagnostique selon l'invention, le composé est une substance luminescente telle que définie ci-dessus.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention est utilisée à titre d'agent diagnostic, ou de sonde intra-vitale.

La présente invention concerne également une méthode de diagnostic dans laquelle on administre à un individu la particule selon l'invention.

La présente invention concerne également un dispositif médical comprenant au moins la particule selon l'invention, dans laquelle le composé est de préférence un composé pharmaceutique ou la substance luminescente.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le dispositif médical selon l'invention est utilisé
5 pour des applications médicales, vétérinaires ou végétales, notamment dans le traitement d'une maladie comme le cancer.

La présente invention concerne également une composition cosmétique comprenant au moins la particule selon l'invention, dans laquelle le composé est un principe actif cosmétique, éventuellement associée à un véhicule cosmétiquement acceptable.

10 Selon un autre aspect de l'invention, la particule selon l'invention est utilisée à titre d'agent cosmétique.

Selon l'invention, la particule peut être un dispositif médical, un médicament, une composition cosmétique, une substance thérapeutique, un agent de contraste ou un agent de diagnostic.

Selon un autre aspect de l'invention, la particule selon l'invention comprenant un composé
15 luminescent est utilisée à titre de sonde pour détecter une variation de luminescence ou une variation d'une propriété de la NANOF, de la substance luminescente et/ou de l'environnement de la particule.

Dans certains modes de réalisation, le composé luminescent est la substance luminescente.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention comprenant un
20 composé luminescent est utilisée à titre de sonde pour détecter la dissociation de la substance luminescente de la NANOF et/ou la modification chimique de la NANOF.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention comprenant un composé luminescent est utilisée à titre de sonde pour détecter un rayonnement tel que défini dans l'invention.

25 Dans un mode de réalisation de l'invention, la sonde selon l'invention comprenant la particule associée au composé luminescent peut être utilisée *in vivo*, *ex vivo* ou *in vitro*, dans le cadre de recherches à visées médicales ou non, notamment d'un traitement, d'un diagnostic et/ou à l'intérieur, à la surface ou à l'extérieur d'une substance, préférentiellement biologique.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention comprenant un
30 composé luminescent est utilisée à titre de sonde pour détecter un état physiologique particulier qui est différent de la normale, préférentiellement résultant d'une maladie ou d'une opération médicale.

Selon un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention est utilisée à titre de sonde pour détecter un état physiologique particulier qui est différent de celui d'un sujet dans

- son état normal. Cet état physiologique particulier peut résulter d'une maladie, d'une opération médicale, de l'exposition de cet organisme à une substance ou rayonnement, d'une fièvre, d'un cancer, d'une réponse du système immunitaire. Il peut aussi être n'importe quel état atteint par un sujet lors d'une opération ou intervention médicale, un traitement, un diagnostic, une
- 5 opération chirurgicale, une séance de biopsie, de cytoponction, d'endoscopie, d'IRM, de scanner, de coloscopie, de scintigraphie, de TEP-SCAN, de rayons X, de chimiothérapie, d'hyperthermie telle que l'hyperthermie magnétique. Pour ce faire, la particule peut être mise en interaction, en contact, en association avec un organisme ou administrée à cet organisme étant dans un état physiologique particulier. Cela peut induire une variation de la luminescence
- 10 de la particule différente de celle observée lorsque l'organisme est dans son état normal et permettre ainsi une détection de cet état physiologique particulier. Par exemple, la particule peut être introduite dans la tumeur d'un patient subissant un traitement par hyperthermie et la variation de luminescence mesurée peut être différente de celle observée en absence de traitement, permettant ainsi de mettre en évidence l'activation du traitement.
- 15 Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention comprenant un composé luminescent, est utilisée à titre de sonde pour détecter l'association, le marquage, le ciblage, la délivrance de la particule, de la NANOF ou de la substance luminescente.
- Selon un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention est utilisée pour détecter le marquage, le ciblage, la délivrance d'une substance. Pour réaliser le marquage, la
- 20 particule peut être associée à cette substance. Pour cibler une substance, la particule peut être envoyée ou guidée vers cette substance, par exemple en accrochant à la particule un anticorps qui reconnaît spécifiquement cette substance ou un appliquant un champ magnétique orienté dans la direction de cette substance. Pour délivrer une substance, la particule peut être associée à cette substance et être délivrée à un endroit donné. Le marquage, ciblage, délivrance de cette
- 25 substance peut(peuvent) alors être observé(s) à partir d'une variation de luminescence caractéristique se produisant lors du marquage, ciblage, délivrance.
- Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention comprenant un composé luminescent est utilisée à titre de sonde pour détecter le mélange, le retrait de la particule d'un milieu.
- 30 La présente invention concerne également l'utilisation de la particule selon l'invention à titre de sonde pour détecter le retrait de certaines substances d'un matériau, organisme, milieu, notamment dans le cadre d'une détoxification ou pour isoler, purifier ces substances. Pour ce faire, la particule peut être accrochée à ces substances et les complexes ainsi formés peuvent être retirés du matériau, organisme, milieu, en utilisant par exemple un champ magnétique. Ce

retrait peut être observé à partir de la variation de luminescence caractéristique se produisant lors du retrait.

La présente invention concerne également l'utilisation de la particule selon l'invention à titre de sonde pour suivre le mélange de certaines substances à un matériau, organisme, ou milieu.

- 5 Pour ce faire, ladite sonde peut être accrochée à ces substances et les complexes ainsi formés peuvent être mélangés à un matériau, organisme, ou milieu, en utilisant un champ magnétique. Ce mélange peut être observé à partir de la variation de luminescence caractéristique se produisant lors du mélange.

- 10 Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention comprenant un composé luminescent est utilisée à titre de sonde pour détecter un état particulier qui est différent d'un état normal, tel qu'un niveau élevé de pollution, de radioactivité, de toxicité.

- Selon un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention est utilisée à titre de sonde pour détecter un état particulier qui est différent d'un état normal, par exemple un état dû à certains paramètres tels qu'un niveau de radioactivité, de pollution, de rayonnement, de toxicité différent, préférentiellement plus élevé que la normale. Pour ce faire, la particule peut être placée dans une zone ayant un niveau de ces paramètres différent, préférentiellement plus élevé que la normale. Cela peut induire une variation de luminescence différente de celle observée dans une zone ayant un niveau normal de ces paramètres et ainsi permettre la détection d'un niveau de ces paramètres différent, préférentiellement plus élevé que la normale.

- 20 La présente invention concerne également l'utilisation de la particule selon l'invention à titre de sonde pour détecter l'efficacité d'une transfection ou magnétofection. Dans ce cas, de l'ADN ou ARN peut être associé à la particule et transfecté dans des cellules en présence ou non d'un champ magnétique. L'efficacité de ces mécanismes peut être mise en évidence à partir de la variation de luminescence caractéristique se produisant lors de la transfection ou magnétofection.

La présente invention concerne également l'utilisation de la particule selon l'invention à titre de sonde pour détecter l'internalisation de la particule, par exemple dans une cellule ou une organelle où cette internalisation peut être observée à partir d'une variation de luminescence caractéristique se produisant lors de cette internalisation.

- 30 La présente invention concerne également l'utilisation de la particule selon l'invention à titre de sonde et/ou pour détecter la dissociation d'une substance de la particule et/ou sa diffusion suite notamment à l'application d'un rayonnement ou à la variation de l'environnement de la particule. Le décrochage de cette substance et/ou sa diffusion peut(peuvent) être mis en évidence à partir de la variation de luminescence caractéristique qu'il(s), elle induit(induisent).

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule selon l'invention ou la substance luminescente subit une variation de luminescence qui peut être utilisée pour détecter au moins un paramètre suivant: (i), une variation de l'environnement de la particule, NANOF ou substance luminescente telle que définie dans l'invention, (ii) un rayonnement tel que défini dans l'invention, (iii), la dissociation du composé de la NANOF et/ou sa diffusion, ou (iv), la distribution de la particule. Pour permettre cette détection, une relation peut être établie entre la variation de luminescence et au moins l'un de ces paramètres, soit en utilisant une relation connue ou déterminée soit à l'aide d'au moins un système de détection permettant de mesurer au moins l'un de ces paramètres.

La présente invention concerne également la particule comprenant au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique associée à au moins un composé, dans laquelle le composé se dissocie de la nanoparticule d'oxyde de fer et/ou se modifie chimiquement, suite à une perturbation physico-chimique exercée sur la particule, et la nanoparticule d'oxyde de fer est synthétisée par une bactérie, préférentiellement une bactérie magnétotactique, et ne comprend pas de matière carbonée ou organique provenant de la bactérie. Dans ce cas, la particule peut comprendre de la matière minérale provenant de la bactérie.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule ne comprend pas de matière carbonée ou organique provenant d'un organisme vivant ou de la bactérie lorsqu'elle contient moins de 90, 75, 50, 25, 15, 10, 5, 3, 1, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-10} , ou 10^{-20} % de cette matière carbonée ou organique, où ce pourcentage peut correspondre à la masse de matière carbonée ou organique provenant d'un organisme vivant ou de la bactérie contenue dans la particule divisée par la masse totale de la particule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule ne comprend pas de matière carbonée ou organique provenant d'un organisme vivant ou de la bactérie lorsqu'elle est apyrogène ou lorsqu'elle contient un taux d'endotoxine inférieur à 10^3 , 1000, 500, 100, 50, 10, ou 5 unités d'endotoxines par mg de particule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule ne comprend pas de matière carbonée ou organique provenant de la bactérie lorsqu'elle n'est pas issue d'une bactérie génétiquement modifiée, où la modification génétique a pour but de synthétiser la substance luminescente.

La présente invention concerne également la particule comprenant au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique associée à au moins une substance luminescente, dans laquelle la substance luminescente se dissocie de la nanoparticule d'oxyde de fer et/ou se modifie chimiquement, suite à une perturbation physico-chimique exercée sur la

particule, et la substance luminescente a une taille au moins 100 fois inférieure à celle de la nanoparticule, et la substance luminescente est en contact direct avec la nanoparticule, et la particule ne comprend pas de matière carbonée ou organique provenant d'un organisme vivant. Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente a une taille au moins 2, 5, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , ou 10^{10} fois inférieure à la taille de la nanoparticule, ce qui peut permettre de lier ou d'associer un nombre important de substances luminescentes à la nanoparticule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente a une petite taille, préférentiellement inférieure à 10 ou 1 nm, 100, 10, 5, 1 ou 0,1 Å, ou un petit poids moléculaire, préférentiellement inférieur à 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , ou 10 g/mol, ce qui peut permettre de lier ou d'associer un nombre important de substances luminescentes à la nanoparticule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la substance luminescente est liée ou associée à la nanoparticule par au moins une substance dont la taille est inférieure à 10 ou 1 nm, 100, 10, 5, 1 ou 0,1 Å, ou dont le poids moléculaire est inférieur à 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , ou 10 g/mol, ce qui peut permettre de lier ou d'associer un nombre important de substances luminescentes à la nanoparticule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, on préfère éviter l'utilisation de certaines structures de grande taille, d'une taille supérieure à 10 ou 1 µm, 100, 10 ou 1 nm, 100, 10, 5, 1 ou 0,1 Å, telles que des substances biologiques, protéines, lipides, ADN, ARN, ou de grosses molécules telles que des dendrimères, pour lier ou associer la substance luminescente à la nanoparticule. Ce type de structure peut effet d'une part limiter le nombre de substances luminescentes que l'on peut lier ou associer à la nanoparticule et d'autre part créer une distance importante, préférentiellement supérieure à 10 ou 1 µm, 100 ou 10 nm, entre la substance luminescente et la nanoparticule, et ainsi gêner le fonctionnement de la sonde ou de la particule, notamment l'atténuation de luminescence de la substance luminescente lorsque la substance luminescente est à proximité de la nanoparticule.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le rapport surface/volume de la nanoparticule est suffisamment élevé pour permettre l'association du composé ou de la substance luminescente, est préférentiellement supérieur à 10^{-10} , 10^{-5} , 10^{-3} , 10^{-1} , 0,5, ou 0,9 nm⁻¹.

Dans un autre mode de réalisation de l'invention, le rapport surface/volume de la nanoparticule n'est pas trop élevé pour éviter que la nanoparticule ne perde ses propriétés ferrimagnétiques ou ferromagnétiques, est préférentiellement inférieur à 10^3 , 10^2 , 10, 1, 0,1, ou 0,01 nm⁻¹.

Dans un mode de réalisation de l'invention, au moins 2, 5, 10, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , ou 10^{10} substances luminescentes sont associées ou liées à la nanoparticule ou à chaque nanoparticule,

préférentiellement à chaque nanoparticule en moyenne. Dans certains cas, le nombre de substances luminescentes associées ou liées à chaque nanoparticule en moyenne peut être estimé en mesurant le rapport entre le nombre de substances luminescentes non associées à la nanoparticule contenues dans un volume donné, mesuré lorsque la particule est activée ou inactivée, préférentiellement lorsque la particule est activée, divisé par le nombre de nanoparticules non associées à la substance luminescente contenu dans le même volume, mesuré lorsque la particule est activée ou non activée, préférentiellement lorsque la particule est activée.

Dans un mode de réalisation de l'invention, la particule comprenant la substance luminescente associée ou liée à la nanoparticule possède une SAR, une coercivité, un rapport entre aimantation rémanente et aimantation à saturation, ou aimantation à saturation qui est(sont) au moins égal ou égaux à 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} , 1, 1,001, 1,01, 1,2, 1,5, 2, 5, 10, ou 100 que multiplie la SAR, la coercivité, rapport entre aimantation rémanente et aimantation à saturation, ou aimantation à saturation de la nanoparticule respectivement.

Dans un mode de réalisation de l'invention, au moins deux des environnements suivant peuvent être équivalents : l'environnement chimique, l'environnement de la particule, l'environnement de la NANOF, l'environnement du composé, l'environnement de la sonde, l'environnement naturel de la particule, l'environnement radioactif, l'environnement biologique.

DESCRIPTION DE LA FIGURE

Figure 1 : Figure schématique indiquant la fabrication et le fonctionnement de la particule. Sous l'effet d'un rayonnement ionisant ou d'une variation de l'environnement de la particule, le composé se dissocie de la NANOF et/ou se modifie chimiquement.

EXEMPLES EXPERIMENTAUX :

Signification des abréviations.

Dans la description des exemples expérimentaux, MC désigne des chaînes de magnétosomes extraites des bactéries magnétotactiques non luminescentes cultivées en absence de rhodamine B, MCR400 et MCR20 désignent des chaînes de magnétosomes extraites de bactéries magnétotactiques, où les bactéries sont synthétisées en présence de 400 μ M de rhodamine B et 20 μ M de rhodamine B. BNF-DiI et MC-DiI désignent respectivement des BNF-Starch plain (Micromod 10-00-102) et magnétosomes en chaînes préparés en présence de DiI (Sigma 42364 ; 1,1'-Diocetadecyl-3,3,3',3'-tetraméthyl-indocarbocyanine perchlorate). Le surnageant des MCR400, BNF-DiI et MC-DiI est le liquide retiré après avoir attiré les différentes nanoparticules d'oxyde de fer en suspension à l'aide d'un aimant au Néodinium de 0,6 T.

Exemple 1: Synthèse et caractéristiques des MC et MCR400.

Les suspensions de MCR400 et de MC ont été préparées selon le protocole expérimental suivant : Les bactéries magnétotactiques *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 ont été obtenues à l'ATCC (ATCC 700274) et ont été cultivées dans des conditions micro-anaérobiques à la température de 30°C dans un milieu de culture liquide légèrement modifié par rapport au milieu MSGM (Milieu ATCC 1653). Dans un litre, ce milieu de culture contient 0,68 g de potassium phosphate monobasique, 0,85 g de succinate de sodium, 0,57 g de tartrate de sodium, 0,083 g d'acétate de sodium, 225 µl de résazurine à 0,2%, 0,17 g de nitrate de sodium, 0,04 g d'acide L-ascorbique, 2 ml d'une solution de quinate de fer à 10 mM, 10 ml d'une solution de vitamines de Woolf et 5 ml d'une solution de minéraux de Woolf. Pour préparer les MC, aucune solution de rhodamine n'est ajoutée au milieu de culture. Pour préparer les MCR400, 100 mL d'une solution de rhodamine B 4 mM sont introduits dans le milieu de culture des bactéries. Pour préparer les MCR20, 5 mL d'une solution de rhodamine B 4 mM sont introduits dans le milieu de culture des bactéries. Le pH du milieu de culture est ajusté à 6,85 en utilisant une solution de soude à 1M. Les bactéries sont collectées pendant la phase stationnaire et les bactéries sont concentrées à l'aide d'une colonne (mPES, 500KDa) de filtration à flux tangentielle avec un débit de 950 mL/min puis lavées 5 fois pendant 30 minutes avec une solution de tampon phosphate salin à pH 7,4 (137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 1,76 mM KH₂PO₄). Les bactéries sont collectées par centrifugation à 4 000 tours par minute pendant 1 heure, le surnageant est retiré et les bactéries sont re-suspendues dans 50 mM d'une solution tampon de Tris-HCl à pH 7,4 et diluées jusqu'à l'obtention d'une densité optique de 5 à 600 nm. Afin d'extraire les chaînes de magnétosomes, cette suspension est soniquée à 5°C pendant 60 minutes à 30 W (avec un pulse de 2 sec et un intervalle entre pulses de 1 sec) pour lyser les membranes cellulaires, isolant ainsi les chaînes de magnétosomes des bactéries. Après sonication, les chaînes de magnétosomes sont isolées magnétiquement des débris cellulaires à l'aide d'un aimant de néodyme. Le surnageant contenant les débris cellulaires est retiré et les chaînes de magnétosomes sont lavées cinq fois magnétiquement à l'aide d'une solution tampon de Tris-HCl 50 mM à pH 7,4 puis quinze fois avec de l'eau Millipore®. Elles sont finalement resuspendues dans de l'eau stérile Millipore® pour obtenir une suspension de MCR400, de MCR20 ou de MC.

L'association de la rhodamine B aux MCR400 est mise en évidence par le spectre d'absorption d'une suspension de MCR400 à une concentration en fer de 40µg/mL. Ce spectre présente un épaulement à 550 nm, absent dans le spectre d'absorption des MC et correspondant à la longueur d'onde d'absorption maximale de la rhodamine B. Par ailleurs, le surnageant de la suspension des MCR400 absorbe peu à la longueur d'onde d'absorption de la rhodamine B.

Ceci confirme que l'absorption de la rhodamine B dans la suspension de MCR400 provient de la rhodamine B associée aux magnétosomes. Cette association peut aussi être révélée par les spectres d'émission de fluorescence des MCR400. En effet, la suspension de MCR400, excitée à 405 nm, a un maximum d'intensité de fluorescence à 569 nm, une longueur d'onde légèrement inférieure à celle correspondant à l'intensité maximum de fluorescence de la rhodamine B qui est de 576 nm. Cette différence pourrait s'expliquer par l'association de la rhodamine B et des chaînes de magnétosomes qui modifierait légèrement la longueur d'onde d'émission des MCR400 par rapport à celle de la rhodamine B. Par ailleurs, le spectre infrarouge des MCR400 que nous avons mesuré révèle la présence de bande de déformation et de vibration caractéristiques des MC (Amide I à 1650 cm^{-1} , amide II à 1530 cm^{-1} , lipopolysaccharides (LPS) ou phospholipides à 1050 cm^{-1} et à 1250 cm^{-1} , maghémite à 580 cm^{-1}) ainsi que ceux caractéristiques de la rhodamine B (acide carboxylique à 1700 cm^{-1} , alcène à 1475 cm^{-1} et à 680 cm^{-1} , éther à 1250 cm^{-1} et à 1175 cm^{-1} , amine III à 1125 cm^{-1}). Ces résultats semblent donc confirmer que la rhodamine B est soit adsorbée à la surface des magnétosomes soit complexée aux magnétosomes, possiblement grâce à la fonction acide carboxylique de la rhodamine B. Une expérience a également permis de déterminer le nombre de molécules de rhodamine B présentes sur ou dans chaque magnétosome. Pour cela, les MCR400 ont été mis en présence d'acide chlorhydrique à $\text{pH} = 2$ afin de libérer la rhodamine B des magnétosomes et de transformer l'oxyde de fer en ions fer (III) et fer (II). Le spectre de fluorescence des MCR400 ainsi traités suggère que la rhodamine B est bien libérée des magnétosomes puisque le pic de luminescence est à 582 nm (la longueur d'onde d'émission de la rhodamine B libre en solution à $\text{pH} 2$) et non pas à 568 nm (la longueur d'onde d'émission de la rhodamine B associée aux magnétosomes dans les MCR400). A partir de l'intensité de luminescence de la rhodamine B libérée des magnétosomes ($\sim 0.56\text{ u. a.}$), une concentration en rhodamine B de 750 nmol/L est estimée à partir d'une courbe d'étalonnage représentant la variation de luminescence de la rhodamine B seule en solution à $\text{pH} = 2$ en fonction de la concentration en rhodamine B. Dans 1 mL , il y a donc $4,6 \cdot 10^{14}$ molécules de RhB. Connaissant la concentration des magnétosomes en suspension de $\sim 166\text{ }\mu\text{g/mL}$ et la masse d'un magnétosome de $6,25 \cdot 10^{-16}\text{ g}$, on en déduit le nombre de magnétosomes dans 1 mL comme étant $26,5 \cdot 10^{10}$ magnétosomes et le nombre de molécules de rhodamine B associées aux magnétosomes dans les MCR400 est estimé à $\sim 178 \pm 4$. En d'autres termes, 178 ± 4 molécules de rhodamine B sont associées à chaque magnétosome en moyenne.

Nous pouvons conclure de cet exemple que :

- (i) Nous avons présenté une méthode de fabrication des MCR400.
- (ii) Nous avons mis en évidence l'association de la rhodamine B aux magnétosomes dans les MCR400.
- (iii) Les MCR400 sont caractérisés par un pic d'absorption de longueur d'onde similaire à celle de la rhodamine B et par un pic d'émission à une longueur d'émission différente de celle de la rhodamine B d'environ 7-10 nm.

Exemple 2: Synthèse et propriétés des MC-DiI et BNF-DiI.

Les suspensions de MC-DiI et BNF-DiI sont préparées, respectivement à partir d'une suspension de MC et de BNF-starch, préalablement concentrée à 25 mg/mL en oxyde de fer par centrifugation à 14 000 tours par minutes pendant 30 minutes à 5°C. Une solution stock de DiI à 5 mg/mL est d'abord préparée dans de l'éthanol absolu préalablement distillé. 5 mg d'oxyde de fer des suspensions de MC et de BNF-starch sont ensuite introduits dans 200µL d'éthanol absolu distillé puis mélangés à 2,5 mg de DiI provenant de la solution stock. Le mélange est soniqué à 30W pendant 10 min (pulse de 2 sec.), à l'abri de la lumière et à une température comprise entre 5 et 10 °C. Un volume d'1mL d'eau stérile Millipore® est ajouté à la suspension soniquée puis l'échantillon est laissé sous agitation magnétique pendant 1h à température ambiante et à l'abri de la lumière. Par la suite, ce mélange est conservé à 5 °C pendant 24 heures. Le mélange est soniqué à 30W pendant 10 min (pulse 2 sec.) à l'abri de la lumière et à une température comprise entre 5 et 10 °C. Les suspensions de MC-DiI et BNF-DiI sont concentrées par centrifugation à 14 000 tours par minutes pendant 30 minutes à 5°C puis lavées cinq fois à l'éthanol 0,5% et quinze fois à l'eau stérile Millipore®. Elles sont finalement resuspendues dans de l'eau stérile Millipore® pour obtenir des suspensions de MC-DiI ou de BNF-DiI.

Les spectres d'absorption du DiI présentent deux maximums à 560 nm et 520 nm. Les BNF-DiI présentent trois pics d'absorption à des longueurs d'onde différentes à 595 nm, à 535 nm et à 490 nm. Le surnageant des BNF-DiI n'absorbe pas aux longueurs d'onde d'absorption du DiI. Les spectres d'émission du DiI excité à 530 nm présentent deux pics d'intensité maximale à 640 nm et 591 nm. Comme pour les spectres d'absorption, un décalage spectral est observé entre les spectres d'émission du BNF-DiI excité à 530 nm dont les pics d'intensité maximale sont à 670 nm et 600 nm et ceux du DiI. Par ailleurs, le surnageant des BNF-DiI n'émet pas d'intensité de luminescence aux longueurs d'onde d'émission du DiI. Les décalages spectraux observés en absorption et émission entre BNF-DiI et DiI suggèrent une modification du DiI lorsqu'il est associé aux BNF. L'absence d'absorption et d'émission du surnageant des BNF-

DiI suggère l'absence de DiI dans ce surnageant et l'association du DiI aux BNF dans les BNF-DiI.

Les MC-DiI présentent un comportement relativement similaire aux BNF-DiI avec deux pics d'absorption à 570 nm et 520 nm, deux pics d'émission à 680 nm et 600 nm. Comme pour les BNF-DiI, les différences observées entre les pics d'absorption et d'émission du MC-DiI et ceux du DiI suggèrent une modification du DiI lorsqu'il est associé aux MC. L'absence d'absorption et d'émission du surnageant des MC-DiI suggère l'association du DiI aux MC dans les MC-DiI.

Nous pouvons conclure de cet exemple que :

- (i) Nous avons présenté une méthode de fabrication des BNF-DiI et des MC-DiI
- (ii) Nous avons mis en évidence l'association du DiI aux BNF et aux MC.
- (iii) Les BNF-DiI et MC-DiI sont caractérisés par des pics d'absorption et d'émission dont les longueurs d'onde sont différentes de celles du DiI.

Exemple 3 : Utilisation des MCR400 comme sonde de température.

- Une solution de rhodamine B de concentration 5 μM et de pH 7 contenue dans un volume de 800 μL , est excitée à 405 nm et chauffée à différentes températures pendant 30 minutes à l'aide d'un bain chauffant à sec. Lorsque la température de cette solution augmente de 20 $^{\circ}\text{C}$ à 80 $^{\circ}\text{C}$, la longueur d'onde correspondant au maximum de luminescence de la rhodamine B reste relativement inchangée alors que l'intensité maximale de luminescence de rhodamine B diminue fortement de 73% en accord avec des résultats précédemment publiés (Journal of Luminescence, Vol. 27, P. 455 (1982)). Une suspension de MCR400 de concentration 250 $\mu\text{g/mL}$ en oxyde de fer et de pH 7, contenue dans un volume de 800 μl , est excitée à 405 nm et chauffée à différentes températures pendant 30 minutes à l'aide d'un bain chauffant à sec. Les MCR400 excités à 405 nm produisent une intensité maximale de luminescence à 569 nm. Le comportement des MCR400 est différent de celui de la rhodamine B. En effet, entre 20 $^{\circ}\text{C}$ et 80 $^{\circ}\text{C}$, le maximum du pic de luminescence est observé à 569 nm et l'intensité de luminescence des MCR400 augmente fortement de 66%. L'intensité de luminescence de la rhodamine B serait initialement atténuée lorsque la rhodamine B est associée aux magnétosomes et augmenterait avec la dissociation de la rhodamine B des magnétosomes sous l'effet d'une augmentation de température.

La dissociation de la rhodamine B des MCR400 par chauffage est confirmée par des mesures d'absorption. Des suspensions de MCR400 de concentration 40 $\mu\text{g/mL}$ en oxyde de fer sont chauffées pendant une période de 0 à 240 minutes à pH 7 et l'absorption du surnageant des

MCR400 est mesurée à 550 nm. Les variations de l'absorption du surnageant des MCR400 sont mesurées en fonction du temps et de la température de chauffage. Plus la suspension de MCR400 est chauffée longtemps ou à une température élevée, plus l'absorption du surnageant est élevée. A 20 °C, l'absorption du surnageant des MCR400 augmente de 0 à ~0.004 en 240 minutes. A 60 °C, l'absorption du surnageant augmente de ~0,01 à ~0,028 en 240 minutes. A 90 °C, l'absorption du surnageant augmente de ~0,022 à ~0,044 en 240 minutes. Lorsque les MSR400 sont chauffés à différentes températures pendant 240 minutes, la concentration en rhodamine B dans le surnageant des MCR400 augmente de 20 nM à 20 °C à 560 nM à 90 °C.

Nous pouvons conclure de cet exemple que :

- (i) Il est possible d'établir une relation entre la variation de l'intensité de luminescence et la variation de température des MCR400 et donc d'utiliser les MCR400 comme sonde de température.
- (ii) L'intensité de luminescence des MCR400 augmente avec l'augmentation de température, un comportement opposé à celui de la rhodamine B libre en solution. Cela peut notamment permettre de distinguer entre la présence de rhodamine B libre ou de rhodamine B associée aux magnétosomes.
- (iii) L'augmentation de luminescence des MCR400 avec la température peut être attribuée à la dissociation de la rhodamine B des MCR400 lorsque ces derniers sont chauffés.
- (iv) La quantité de rhodamine B dissociée des magnétosomes par chauffage peut être évaluée par des mesures d'absorption.

Exemple 4 : Utilisation des MCR400 comme sonde de détection d'irradiation.

Trois suspensions, maintenues à pH 7 et à une température de 25 °C, contenant soit des MCR400 de concentration 400 µg/mL en oxyde de fer, soit de la rhodamine B à 125µM, soit des MC à 400 µg/mL en oxyde de fer mélangés à de la rhodamine B à 125µM. Ces suspensions sont irradiées à l'aide d'un dosimètre irradiateur faxitron (160 kV, 6,3 mA et sans filtre, 67,5 Gy/min). Les doses d'irradiation sont comprises entre 0 et 1350 Gy. La luminescence, excitée à 550 nm et mesurée à 578 nm, des suspensions contenant la rhodamine B seule ou le surnageant du mélange de rhodamine B et de MC ne varie pas ou diminue lorsque ces suspensions sont irradiées. Par contraste, lorsque la suspension de MCR400 est irradiée, la luminescence du surnageant de cette suspension, excitée à 550 nm et mesurée à 576 nm, augmente fortement de 250 u. a. en absence d'irradiation à 600-950 u. a. en présence d'une irradiation supérieure à 250 Gy. Ces résultats suggèrent la dissociation de la rhodamine B des MCR400 sous l'effet d'une irradiation. Par ailleurs, la longueur d'onde d'émission du surnageant des MCR400 et de la

rhodamine B libre en solution reste inchangée à 576 nm, et ce quelle que soit la dose d'irradiation reçue par les MCR400 ou la rhodamine B. Ceci suggère que la rhodamine B libre en solution ou associée aux magnétosomes n'a pas été modifiée sous l'effet de l'irradiation.

Nous pouvons conclure de cet exemple que :

- 5 (i) Il est possible d'établir une relation entre la variation de luminescence et la variation d'irradiation des MCR400 et donc d'utiliser les MCR400 comme sonde d'irradiation.
- (ii) L'intensité de luminescence du surnageant des MCR400 augmente avec l'augmentation de l'irradiation, un comportement différent de celui de la rhodamine B libre en solution. Cela peut notamment permettre de distinguer entre la présence de rhodamine B libre ou de rhodamine
- 10 B associée aux magnétosomes.
- (iii) L'augmentation de luminescence du surnageant des MCR400 avec l'irradiation peut être attribuée à la dissociation de la rhodamine B des MCR400 lorsque ces derniers sont irradiés.
- (iv) La quantité de rhodamine B dissociée des magnétosomes par irradiation peut être évaluée par des mesures de luminescence.

15 **Exemple 5 : Utilisation des BNF-DiI comme sonde de température.**

Une suspension de DiI de concentration à 5,4 μM et à pH 7 est chauffée à différentes températures comprises entre 20 et 90 °C pendant 30 minutes à l'aide d'un bain chauffant à sec. L'intensité maximale de luminescence du DiI, excité à 530 nm, augmente entre 20 et 60 °C puis diminue entre 60 et 100°C. Lorsqu'une suspension contenant des BNF-DiI mélangée dans l'eau

20 à une concentration de 80 $\mu\text{g/mL}$ en oxyde de fer est chauffée à des températures comprises entre 20 et 90 °C à l'aide d'un bain chauffant à sec, le comportement est différent de celui observé avec le DiI seul. En effet, l'intensité maximale de luminescence des BNF-DiI, excités à 530 nm, diminue entre 20 et 60°C puis reste quasi stable entre 60 et 100 °C.

Afin de déterminer si la variation de luminescence des BNF-DiI est due à une dissociation du

25 DiI des BNF, l'intensité maximale de luminescence du surnageant des BNF-DiI et des DiI seuls, excités à 530 nm, ont été mesurées pour des suspensions contenant les BNF-DiI ou les DiI seuls chauffées à différentes températures comprises entre 20 et 90 °C pendant une période de 0 à 30 minutes. L'intensité de luminescence du surnageant des BNF-DiI n'augmente pas lorsque les BNF-DiI sont chauffés entre 20 et 90 °C pendant une période de 0 à 30 minutes. Sachant

30 que lorsque le DiI est chauffé entre 20 et 90 °C pendant une période de 0 à 30 minutes, son intensité de luminescence ne diminue pas de manière significative, cela suggère que la concentration du DiI dans le surnageant des BNF-DiI n'augmente pas lorsque la température augmente et que le DiI ne se dissocie donc pas des BNF.

Nous pouvons conclure de cet exemple que :

(i) Il est possible d'établir une relation entre la variation de l'intensité de luminescence et la variation de température des BNF-DiI et donc d'utiliser les BNF-DiI comme sonde de température.

5 (ii) L'intensité de luminescence du surnageant des BNF-DiI n'augmente pas avec l'augmentation de température, ce qui suggère que le DiI ne se dissocie pas des BNF sous l'effet d'une augmentation de température. Dans ce cas, la diminution de la luminescence des BNF-DiI avec l'augmentation de température pourrait s'expliquer par une modification chimique des BNF-DiI.

10 **Exemple 6 : Utilisation des MCR400 comme sonde de pH.**

Des MCR400 sont testés comme sonde de pH *in vivo* sur des cerveaux de rats. Pour cela, 4 rats sont utilisés. Le rat 1 est un rat sain euthanasié en même temps que le rat 2. Les rats 2 à 4 reçoivent 5 μ L d'une suspension contenant 3×10^3 cellules RG-2, implantés à l'aide d'un casque de stéréotaxie aux coordonnées 2 mm antérieur, 2 mm latéral et 4 mm de profondeur. Le rat 2
15 ne subit pas de traitement et est euthanasié 18 jours après l'implantation des cellules. Les rats 3 et 4 reçoivent quatorze jours après l'implantation des cellules tumorale à l'endroit de cette implantation 10 μ L d'une suspension de MCR400 à une concentration de 668 μ g/mL en oxyde de fer. Les rats 3 et 4 sont euthanasiés 2 heures et 4 jours après l'administration des magnétosomes respectivement. Les cerveaux sont ensuite extraits puis découpés en couches de
20 3 mm d'épaisseur. La luminescence des tranches est ensuite produite à l'aide d'une diode laser pulsée de 40MHz avec une puissance de 1mW et un rayonnement à 405 nm. La lumière du laser est couplée à une fibre optique de diamètre de 200 μ m positionnée à 1,5 mm au-dessus des tranches de cerveau. La lumière émise par le tissu est collectée par une deuxième fibre optique de diamètre 365 μ m située à 600 μ m de la première fibre et positionnée 1,5 mm au-
25 dessus des tranches de cerveau. La luminescence est détectée par un spectromètre (B. Leh et *al.*, J. Biomed. Opt. (2012) 17(10), 108001) permettant de mesurer l'intensité de luminescence des tranches de cerveau en fonction de la longueur d'onde du rayonnement émis. Les deux fibres optiques peuvent être déplacées latéralement à différents endroits des tranches de cerveau pour repérer les zones de luminescence.

30 Pour les différents rats, les spectres de luminescence des zones saines ne contenant pas de MCR400 ont été mesurés, sont très similaires, une bande de luminescence avec un maximum d'intensité a été observée à environ 500 nm. Cette bande serait due à la contribution minoritaire de la luminescence du NADH à 450 nm et à celle dominante des flavoprotéines à 525 nm. A 575 nm, un épaulement est observé qui proviendrait de la luminescence des lipo-pigments

appelés aussi lipofucine débris lipidiques. A 625 et 690 nm, la luminescence de la protoporphyrine IX et d'une molécule en dérivant sont observés. Les spectres des zones saines ont été moyennés permettant ainsi de normaliser tous les spectres de luminescence mesurés pour toutes les tranches de cerveau de rat.

- 5 Pour les différents rats, les spectres de luminescence des zones tumorales ne contenant pas de MCR400 ont également été mesurés, sont très similaires, indiquant la présence de pics similaires à ceux observés pour la zone saine avec de plus faibles intensités.

Pour le rat 3 euthanasié deux heures après administration des MCR400, le spectre de luminescence de la zone tumorale ayant reçu les MCR400 indique la présence de deux pics
10 intéressants, l'un à 569 nm qui n'est pas présent dans les spectres des zones tumorales et saines ne contenant pas les MCR400 et l'autre à 576 nm. Nous attribuons ces deux pics à l'émission des MCR400 à 569 nm et à celle de la rhodamine B et des lipo-pigments à 576 nm. Le pic à 576 nm ne peut pas uniquement provenir de la luminescence des lipo-pigments, car son intensité relative de luminescence, $I_{576}/I_{500} \sim 1$, est plus élevée que celle de $I_{576}/I_{500} \sim 0.5$ mesurée à partir
15 des spectres de luminescence des zones saines et tumorales ne contenant pas les MCR400, où I_{576} et I_{500} sont les intensités de luminescence mesurées à 576 nm et à 500 nm respectivement. Pour le rat 4 euthanasié quatre jours après administration des MCR400, le spectre de luminescence de la zone tumorale ayant reçu les MCR400 indique la présence du pic provenant de la rhodamine B et des lipo-pigments à 576 nm. Le pic à 569 nm provenant des MCR400
20 n'est plus présent. Ceci pourrait s'expliquer par la dissociation de la rhodamine B des MCR400, suite à l'administration des MCR400 dans le cerveau des rats.

Afin d'étudier si cette dissociation est due à une variation de pH, on étudie d'abord si les MCR400 s'internalisent dans des cellules viables, ce qui pourrait résulter en une variation de pH. Des MCR400 et 500 000 cellules MDA-MB-231 sont mises en présence d'une sonde de
25 viabilité cellulaire, la calcéine-AcétoxyMéthyler (Ca) qui n'est pas naturellement luminescente et qui luminesce en présence de cellules vivantes. Les cellules sont incubées durant 6 heures soit en présence de Ca soit en présence de Ca et MCR400 où la concentration en oxyde de fer des suspensions de MCR400 est de 31,5 µg/mL. Le cytomètre en flux permet de détecter soit la luminescence de Ca (Signal FL1-H), soit celle de la rhodamine B (signal
30 FL3-H). Le signal FL1-H est faible à 2-3 pour les cellules seules et augmente à ~ 100 lorsque les cellules sont en présence de Ca indiquant la viabilité des cellules MDA-MB-231 en absence de MCR400. Lorsque les cellules sont incubées en présence de Ca et MCR400, le signal FL1-H est supérieur à ~ 10 et la majorité des cellules sont donc viables. Quant au signal FL3-H, il indique que 99 % des cellules sont luminescentes en présence de MCR400. Afin d'étudier

l'internalisation des MCR400, les MCR400 à une concentration de 100µg/mL en oxyde de fer sont mis en présence de cellules U87-Luc et de macrophages dans leur milieu de culture respectif DMEM et RPMI avec 10% de sérum de veau fœtal décomplémenté, à 37°C pendant 2 heures. Les cellules U87-Luc ont été lavées cinq fois avec du PBS (phosphate buffer saline) puis fixées, inclus dans la résine et imagées par MET (microscopie électronique à transmission). Les macrophages ont été lavés cinq fois avec du PBS puis imagés par microscopie optique à épi-fluorescence. Dans les deux cas, l'internalisation des MCR400 dans les lysosomes a été observée. Lors de l'internalisation des magnétosomes dans les lysosomes, le pH s'acidifierait à une valeur typiquement comprise entre 3,5 et 5, ce qui pourrait dissocier la rhodamine B des magnétosomes.

Une suspension de MCR400 à 400 µg /mL en oxyde de fer et une solution de rhodamine B à 125µM ont été mélangées avec des solutions d'acide chlorhydrique ou avec des solutions d'hydroxyde de sodium à des concentrations variant de 0,1 à 12 M, pour ajuster le pH à des valeurs comprises entre 2 et 12. Les échantillons contenant les MCR400 ainsi traités sont ensuite placés contre un aimant de 0,6 T, pendant 12h à 4°C et le surnageant des suspensions de MCR400 traitées est retiré. L'intensité maximale de luminescence du surnageant des MCR400, excitée à 550 nm, diminue de 140 u. a. à pH 2 à 20 u. a. à pH 12. Par contre, l'intensité maximale de luminescence de la rhodamine B seule, excitée à 550 nm, augmente de 440 u. a. à 580 u. a. Cette différence de comportement suggère que la rhodamine B associée aux MCR400 subit lors d'une variation de pH une transformation telle qu'une dissociation ou modification chimique qui est différente de celle de la rhodamine B. Par ailleurs, la longueur d'onde d'émission des MCR400 est comprise entre 568 nm et 576 nm pour pH > 4, des valeurs plus faibles que les longueurs d'onde d'émission de la rhodamine B seule et du surnageant des MCR400, comprises entre 577 nm et 580 nm pour pH >4. En revanche, pour 2<pH<4, les longueurs d'onde d'émission de la rhodamine B seule, des MCR400 et du surnageant des MCR400 sont similaires, comprises entre 580 nm et 584 nm. Ces comportements pourraient s'expliquer par l'association de la rhodamine B aux magnétosomes pour pH>4 et par la dissociation de la rhodamine B des magnétosomes pour pH<4.

Nous pouvons conclure que :

- (i) Il est possible de détecter une variation de luminescence des MCR400 à l'intérieur de tumeurs de rats. Cette variation de luminescence pourrait être attribuée à une variation de pH induite par l'internalisation des MCR400 dans les cellules, en particulier à l'intérieur d'organelles à pH acide, telles que des lysosomes ou endosomes, comme nous l'avons observé par microscopie à transmission électronique.

(ii) Cette variation de luminescence des MCR400 en fonction du pH pourrait être attribuée à la dissociation de la rhodamine B des magnétosomes à pH acide.

Exemple 7 : Utilisation des MCR400, BNF-Dil et MC-Dil comme sonde de température et de champ magnétique.

5 **Matériel et méthodes :**

Pour les expériences réalisées sur des cerveaux de souris, les MCR400 sont introduits dans des cerveaux extraits de souris. Dans ce cas, 2 μ l ou 20 μ l d'une suspension de MCR400 de concentration 20 mg/mL en maghémite sont introduits à une profondeur de 1 mm dans le cerveau.

- 10 Pour les expériences réalisées dans des tissus broyés, les magnétosomes MCR400 sont mélangés à du tissu de cerveau, préalablement broyé. Dans ce cas, 2 μ l ou 20 μ l d'une suspension de MCR400 de concentration 20 mg/mL en maghémite sont mélangés à du tissu de cerveau contenu dans un volume de 2 mm³.

- 15 La fluorescence des MCR400 introduits dans le cerveau de souris ou mélangés au tissu est ensuite excitée à 405 nm à l'aide d'une diode laser et est détectée par un spectromètre de luminescence fibré décrit dans l'exemple 6. La fibre optique est positionnée à une distance de 3 mm au-dessus de la surface du cerveau ou du tissu broyé. Cette distance a été optimisée car elle permet de détecter l'intensité de fluorescence maximale émise par les MCR400. La fluorescence des MCR400 est mesurée soit en absence d'application d'un champ magnétique
- 20 alternatif soit en présence d'un champ magnétique alternatif de fréquence 198 kHz et d'intensité 8 mT ou 25 mT. L'application du champ magnétique alternatif produit une excitation magnétique des MCR400. La température de la zone où se situent les MCR400 est également mesurée à l'aide d'une caméra infra-rouge thermographique Easir 2 et d'un thermocouple microprobe (IT-18, Physitemp, Clifton, USA).

- 25 Pour les expériences réalisées dans l'eau, 300 μ l de trois suspensions contenant soit des MCR400, soit des MC-Dil, soit des BNF-Dil à une concentration de 3,6 mg/mL en maghémite sont placés à l'intérieur d'un tube et soumis à l'application d'un champ magnétique alternatif d'intensité 25 mT et de fréquence 198 kHz pendant différentes durées de 0, 100, 200, 300, 600, 900 ou 1200 secondes. La luminescence de ces suspensions est mesurée pour ces suspensions
- 30 mélangées à leur surnageant, le surnageant de ces suspensions et ces suspensions mélangées dans l'eau. Les suspensions mélangées dans leur surnageant sont les suspensions obtenues après application du champ magnétique alternatif. Le surnageant de ces suspensions est obtenu en positionnant un aimant de Néodinium de 0,6 T contre la cuve en quartz contenant ces

suspensions pour maintenir les différentes nanoparticules collées à la paroi de la cuve. Le surnageant est ensuite aspiré à l'aide d'une pipette. Les suspensions mélangées dans l'eau sont obtenues en retirant le surnageant des suspensions et en le remplaçant par de l'eau. La luminescence de ces trois types d'échantillon est excitée à 405 nm pour MCR400 et à 550 nm pour les BNF-DiI et les MC-DiI.

Résultats et discussion :

Lorsque 2 μ l (40 μ g) ou 20 μ l (400 μ g) d'une suspension de MCR400 sont introduits dans le cerveau d'une souris sans application d'un champ magnétique, nous avons montré que ni l'intensité de luminescence ni la température des MCR400 ne varient au cours du temps. Un résultat similaire est obtenu lorsque les MCR400 sont soumis à l'application d'un champ magnétique alternatif de fréquence 198 kHz et d'intensité 8 mT.

En revanche, lorsque 2 μ l d'une suspension de MCR400 sont introduits dans le cerveau d'une souris et les MCR400 sont soumis une première fois (passage 1) à l'application d'un champ magnétique alternatif de fréquence 198 kHz et d'intensité 25 mT, l'intensité de luminescence et la température des MCR400 augmentent de 5 unités arbitraires (ua) à 30 ua, c'est-à-dire de 80%, et de 13 °C à 14 °C respectivement pendant les 100 premières secondes de l'application du champ. Après un premier traitement magnétique de 30 minutes (passage 1), les MCR400 sont soumis à 4 autres excitations magnétiques successives (passages 2 à 5). Pour les passages 2 à 5, les variations de luminescence sont toujours présentes mais moins prononcées que pour le passage 1. Des variations de température ne sont plus observées.

Lorsque 20 μ l d'une suspension de MCR400 sont introduits dans le cerveau d'une souris et que les MCR400 sont soumis pendant 30 minutes à l'application d'un champ magnétique alternatif de fréquence 198 kHz et d'intensité moyenne 25 mT, l'intensité de luminescence et la température augmentent. Pendant les 100 premières secondes de l'excitation magnétique, l'intensité de luminescence augmente de 20 ua à 90 ua, c'est-à-dire de ~ 80% pour 20 μ l de MCR400 administrés. Le pourcentage d'augmentation de luminescence, ~ 80 %, est similaire pour 2 μ l et 20 μ l de MCR400 administrés. Pendant les 100 premières secondes de l'excitation magnétique, la température des MCR400 augmente de 9 à 12 °C. Le pourcentage d'augmentation de température de ~ 33 % est significativement inférieur au pourcentage d'augmentation de luminescence.

Lorsque 2 μ l d'une suspension de MCR400 sont mélangés à du tissu de cerveau et les MCR400 sont soumis une première fois pendant trente minutes à l'application d'un champ magnétique alternatif de fréquence 198 kHz et d'intensité 25 mT, la luminescence et la température des

MCR400 augmentent pendant les 100 premières secondes de l'excitation magnétique d'un facteur 30 et de 2 °C respectivement, deux augmentations plus importantes que celles observées dans le cerveau.

Lorsque 300 µl d'une suspension à 3,6 mg/ml en maghémite de MCR-400, BNF-Dil et MC-Dil sont soumis à l'application d'un champ magnétique d'intensité 25 mT et de fréquence 198 kHz pendant différentes durées de 0, 100, 200, 300, 600, 900 et 1200 secondes, on observe une forte augmentation de la luminescence du surnageant durant les 100 premières secondes de l'excitation magnétique, de 1 u. a. à 19 u. a. pour le surnageant des MCR400, de 0 u. a. à 0,32 u. a. pour le surnageant des BNF-Dil et de 0 u. a. à 0,2 u. a. pour le surnageant des MC-Dil, puis la luminescence est relativement stable après 100 secondes à 18,5-19,5 u. a. pour le surnageant des MCR-400, à 0,31-0,33 u. a. pour celui des BNF-Dil et à 0,17-0,2 u. a. pour celui des MC-Dil. Contrairement à la luminescence du surnageant qui ne contient pas de particules, la luminescence des MCR-400, BNF-Dil et MC-Dil mélangés à leur surnageant ou à de l'eau reste stable à une valeur faible de ~ 4 pour les MCR400 ou reste nulle pour les BNF-Dil et les MC-Dil lorsque le champ magnétique alternatif d'intensité 25 mT et de fréquence 198 kHz est appliqué pendant différentes durées de 0, 100, 200, 300, 600, 900 et 1200 secondes.

Nous avons également mesuré la pente à l'origine de la variation de la luminescence des MCR400 introduits dans des cerveaux de souris ou mélangés à du tissu, $\Delta F/\delta t$, en fonction de la pente à l'origine de la variation de température, $\Delta T/\delta t$. Plus $\Delta T/\delta t$ augmente, plus $\Delta F/\delta t$ augmente et une relation proche d'une relation linéaire, peut être établie entre $\Delta F/\delta t$ et $\Delta T/\delta t$ avec un coefficient $(\Delta F/\delta t)/(\Delta T/\delta t) \sim 45 \text{ ua}/^\circ\text{C}$. Par ailleurs, lorsque $\Delta T/\delta t \sim 0$, une variation de fluorescence non nulle peut être détectée, $\Delta F/\delta t \sim 0,03$.

Nous pouvons conclure de cet exemple que :

(i) lorsque l'intensité du champ magnétique alternatif est en-dessous d'un certain seuil ($B < 8 \text{ mT}$), celui-ci ne produit ni une variation de luminescence ni une variation de température des MCR400. L'excitation magnétique des MCR400 résultant en une variation de luminescence et/ou de température nécessite l'application d'un champ magnétique alternatif d'intensité supérieure à 8 mT.

(ii) lorsque les MCR400 sont introduits dans un cerveau ou mélangés à du tissu et exposés à un champ magnétique alternatif, d'intensité supérieure à ~ 25 mT, cela peut induire une augmentation de luminescence et de température. La variation de la luminescence est plus prononcée que celle de la température. Par ailleurs, la variation de luminescence peut être détectée dans des conditions où la variation de température ne peut pas être détectée, notamment

à des concentrations faibles en nanoparticules d'oxyde de fer. Cela fait de cette sonde luminescente une sonde locale plus sensible qu'une sonde macroscopique de température qui mesure une température moyenne sur un plus grand volume.

(iii) L'augmentation de la luminescence des MCR400 induite par l'application d'un champ magnétique alternatif pourrait être associée à la dissociation de la rhodamine B des magnétosomes. Celle-ci serait initialement atténuée lorsqu'elle est associée aux nanoparticules d'oxyde de fer et augmenterait lorsque la rhodamine B se dissocie des MCR400, suite à l'application du champ magnétique alternatif. Ensuite, la rhodamine B diffuserait dans l'environnement de la sonde, ce qui pourrait expliquer les variations parfois aléatoires de l'intensité de luminescence observées après 100 secondes.

(iv) L'augmentation de luminescence du surnageant des MCR400 pourrait être due à une augmentation de température causée par le champ magnétique. Par contraste, l'augmentation de luminescence du surnageant des BNF-Dil n'est pas due à l'augmentation de température induite par le champ magnétique, mais à un effet autre que thermique induit par le champ magnétique.

(v) Après avoir soumis plus de deux fois 30 minutes les MCR400 à un champ magnétique alternatif d'intensité 25 mT et de fréquence 198 kHz, l'augmentation de luminescence des MCR400 produite par l'application du champ magnétique alternatif s'atténue. Cette atténuation pourrait être due à la diffusion des MCR400 sous l'effet du champ magnétique alternatif ou à la diminution du nombre de molécules de rhodamine B associées aux magnétosomes.

(vi) les variations de luminescence et de température des MCR400 induites par l'application d'un champ magnétique alternatif d'intensité 25 mT et de fréquence 198 kHz sont corrélées. Plus la variation de luminescence augmente, plus la variation de température augmente. Par ailleurs, une relation quasi-linéaire entre $\Delta F/\delta t$ et $\Delta T/\delta t$ peut être établie pour une série de conditions différentes : (i), pour différentes quantités de nanoparticules d'oxyde de fer testées (40 μg ou 400 μg), (ii) pour différents types de nanoparticules (magnétosomes et BNF), (iii) pour différents types de fluorophores (rhodamine B et Dil) et pour différents types de préparations (des MCR400 mélangés à du tissu, insérés dans le cerveau ou mélangés dans l'eau).

(vii) Afin d'établir la relation entre la variation de luminescence et la variation de température, il est possible de considérer les variations se produisant pendant les 100 à 200 premières secondes de l'excitation due au champ magnétique alternatif. En effet, après cette période initiale de 100 à 200 secondes, la variation de luminescence des MCR400 peut être aléatoire.

(viii) lorsque une suspension de MCR400, MC-Dil, BNF-Dil est soumise à l'application d'un champ magnétique alternatif d'intensité 25 mT et de fréquence 198 kHz, cela produit une augmentation de l'intensité de luminescence du surnageant observée pendant les 100 premières secondes de l'excitation magnétique. Cette augmentation de luminescence pourrait s'expliquer

5 par la dissociation de la rhodamine B ou du Dil des magnétosomes ou des BNF. Lorsque la rhodamine B ou le Dil est libre en solution et que les nanoparticules d'oxyde de fer ont été retirées, leur luminescence augmenterait, car elle ne serait plus atténuée par les nanoparticules d'oxyde de fer.

(ix) La luminescence des MCR400, BNF-Dil et MC-Dil mélangés au surnageant ou à de

10 l'eau ne varie pas après application d'un champ magnétique alternatif d'intensité 25 mT et de fréquence 198 kHz. Ce comportement pourrait s'expliquer par l'absorption de la lumière par les nanoparticules d'oxyde de fer.

Exemple 8: Mesure du temps de vie de la rhodamine B et des MCR400.

Les expériences de temps de vie ont été réalisées par la méthode fréquentielle. Le montage

15 utilise une diode laser modulable comme source d'excitation, d'un fluo-spectroscopie confocal, d'une unité contrôle de l'intensificateur d'images et de la camera, de générateurs de fréquences et d'un contrôleur du spectrographe. La fréquence de modulation a été variée de 30 à 180 MHz. La longueur d'onde d'excitation est de 445 nm. La lumière laser est modulée par un signal de radiofréquence. Un filtre interférentiel permet de supprimer la fluorescence parasite provenant

20 de la diode laser et un filtre passe-haut est placé dans la voie de détection pour diminuer la diffusion. Un volume de 1 mL d'une suspension de MCR400 à 5 mg/mL en oxyde de fer et de la rhodamine B à une concentration de 5 μ M ont été placés dans un bain chauffant à sec pendant 5 min pour chauffer les suspensions à 25°C et à 45°C. 10 μ L d'une suspension de MCR400 à 5 mg/mL en oxyde de fer et de la rhodamine B à une concentration de 5 μ M ont été déposés sur

25 une lame puis placés devant un objectif x40 pour mesurer le temps de vie de fluorescence de chaque suspension.

A 25°C, le temps de vie de fluorescence est de 4,8 ns pour les MCR400 et de 1,6 ns pour la rhodamine B. Lorsque les échantillons sont chauffés à 45°C, le temps de vie des MCR400 est de 1,6 ns et celui de la rhodamine B est de 1,3 ns.

30 Nous pouvons conclure de cet exemple que :

(i) Le temps de vie de fluorescence de la rhodamine B est plus court que celui des MCR400 à 25°C et à 45°C.

(ii) La rhodamine B est bien associée aux magnétosomes dans les MCR400 car le temps de vie de fluorescence de la rhodamine B est plus court que celui des MCR400.

(iii) Le temps de vie des MCR400 diminue de façon plus significative lorsqu'on augmente la température que celui de la rhodamine B.

(iv) Le temps de vie des MCR400 à 45°C est identique à celui de la rhodamine B seule, indiquant le décrochage de la rhodamine B des magnétosomes.

5 **Exemple 9: Fonctionnement de la NANOF associée à un composé pharmaceutique.**

Le composé pharmaceutique est associé à la NANOF par une réaction chimique lors du mélange du composé et de la NANOF. La particule est ensuite envoyée vers ou insérée dans un organisme ou une partie d'un organisme, telle qu'une tumeur ou une cellule tumorale. La particule est alors exposée à un champ magnétique, tel qu'un champ magnétique alternatif, ou
10 à une variation de pH, de température ou de composition chimique du milieu environnant la particule, ce qui induit une dissociation du composé pharmaceutique de la NANOF et/ou modification chimique de la NANOF. Sous l'effet de cette dissociation, le composé est activé et agit comme outil de diagnostic ou de traitement thérapeutique.

15 **Exemple 10 : Synthèse de NANOF apyrogène et luminescente, synthétisées par des bactéries magnétotactiques, couverte d'un revêtement de poly-L-lysine et de DiI (M-PLL-DiI).**

Les suspensions de NANOF apyrogènes et luminescentes de M-PLL-DiI sont préparées sous hotte dans des conditions apyrogènes en utilisant les parties centrales des magnétosomes issues de MSR-1 qui sont préparées comme suit. Des bactéries MSR-1 sont d'abord cultivées à 30°C pendant 5 à 7 jours sur un gel d'agar en présence de fer et d'une faible concentration en oxygène
20 (~0.5% O₂). Des colonies magnétiques sont prélevées et cultivées à 30°C en présence d'air pendant plusieurs jours dans un milieu de préculture sans fer contenant des sources de carbone, d'azote, de minéraux, d'éléments trace et d'extraits de levure. Les bactéries magnétotactiques issues de la préculture sont cultivées dans un fermenteur de 50 litres à 30 °C dans un milieu
25 similaire au milieu de préculture. Pendant la croissance, le pH est maintenu à 6,8-7 par ajout d'un milieu nutritif acide contenant une source de fer et de l'air comprimé est introduit dans le milieu de culture pour favoriser la croissance bactérienne tout en gardant la concentration en oxygène inférieure à 0,2% pour permettre la synthèse des magnétosomes. Les bactéries MSR-1 issues de la fermentation sont concentrées jusqu'à une densité optique, mesurée à 565 nm
30 (DO_{565nm}), de 110-120. 100 mL de ce concentrât bactérien sont ensuite mélangés à 400 mL de NaOH 5M et chauffés à 60 °C pendant 1h30 à 2h00 pour lyser les bactéries. Les magnétosomes traités sont ensuite isolés des débris bactériens en plaçant un aimant de Néodinium pendant une nuit contre la paroi du récipient contenant la suspension de bactéries lysées et en remplaçant le surnageant contenant la soude et les débris bactériens par du PBS 1X. La suspension obtenue

est ensuite soniquée pendant 20 secondes à 10W en présence de PBS 1 X, placée contre un aimant de Néodinium pendant 15 minutes, le surnageant est retiré et les magnétosomes traités sont resuspendus dans du PBS 1X. Cette séquence de sonication et de séparation magnétique est répétée quatre fois. Ensuite, 100 mL de la suspension obtenue est mélangée à 200 mL d'une solution contenant du Triton X-100 à 1 % et du SDS à 1%, le mélange est chauffé pendant une nuit à 50 °C, est placé contre un aimant de Néodinium, le surnageant est retiré et remplacé par 80 mL de phénol à pH 8. La suspension obtenue est chauffée pendant 2 heures en soniquant à 60 °C, maintenue pendant une nuit à 60 °C sans sonication, placée contre un aimant, le surnageant de la suspension est retiré et remplacé par 80 mL de chloroforme. La suspension contenant le chloroforme est placée contre un aimant de Néodinium, le surnageant est retiré et le chloroforme résiduel adsorbé à la surface des magnétosomes traités est enlevé en chauffant ces magnétosomes (sans surnageant) pendant 2 heures sous hotte. Enfin les parties centrales des magnétosomes obtenues sont désorbées de la paroi en verre des tubes qui les contiennent en ajoutant 80 mL de NaOH à 1M chauffés pendant 1 heure à 60 °C au bain soniquant. La suspension contenant les parties centrales des magnétosomes est placée contre un aimant de Néodinium, le surnageant est retiré et remplacé par de l'eau MilliQ stérile, la suspension est soniquée pendant 20 secondes à 10 W. Cette séquence de lavage est répétée quatre fois. La suspension contenant les parties centrales des magnétosomes est dégazée à l'azote pour éviter l'oxydation, stérilisée par auto-clavage et stockée à -80°C.

Les suspensions contenant les parties centrales des magnétosomes sont caractérisées par un taux d'endotoxines compris entre 10 et 100 UE/mg/mL, une faible stabilité et sédimentation rapide, l'absence d'un revêtement tel que cela a été observé en microscopie à transmission électronique.

10 mL d'une suspension contenant 56 mg des parties centrales des magnétosomes sont mélangés à 373 mg de poly-L-lysine hydrobromide de masse molaire 21000 g/mol, (Gmac, CAS : 25988-63-0) et à 250 µg de DiI. Le mélange est soniqué au bain soniquant à 25kHz à 30°C pendant 15 minutes. Ensuite le mélange apyrogène est placé sous agitation à 4°C sur une roue à une vitesse de 13 rotations par minutes pendant 19 heures, puis le mélange est soniqué au doigt soniquant pendant 10 minutes à 10 W avec un pulse d'une minute et un intervalle d'une minute entre pulse, à l'abri de la lumière et à 5°C. La suspension est concentrée par centrifugation à 14 000 tours par minutes pendant 30 minutes à 5°C puis lavées deux fois à l'éthanol 0,5% et quinze fois à l'eau stérile Millipore®. La suspension ainsi obtenue est finalement re-suspendues dans de l'eau stérile Millipore® pour obtenir une suspension de M-PLL-DiI apyrogène.

Les cellules 3T3 sontensemencées dans des boîtes de Pétri (Ø 30 mm) à raison de $5 \cdot 10^5$ cellules par 2 mL dans un milieu de culture (DMEM) à 10 % de NCBS. Après 24 heures, elles sont rincées au PBS puis traitées pendant 24 heures avec une suspension de M-PLL-DiI (250µg/mL en fer). Après traitement, les cellules sont rincées trois fois avec du milieu de culture avec 10%
5 NCBS puis les cellules sont photographiées à l'aide d'un microscope à épi-fluorescence. On observe l'internalisation cellulaire des MPLL-DiI par fluorescence.

Exemples 11 : Propriétés des MCR400 comparées à celles des MC.

Des mesures au microscope à transmission électronique révèlent que les MCR400 ont une taille moyenne de 60 nm et une distribution en taille comprise entre 15 nm et 90 nm, alors que les
10 MC ont une taille moyenne de 40 nm et une distribution en taille comprise entre 5 nm et 60 nm. Du fait de l'augmentation de la taille des magnétosomes dans les MCR400 de 50%, comparé aux MC on peut s'attendre à une augmentation de la coercivité, du rapport entre aimantation rémanente et aimantation à saturation ou de la SAR d'au moins 0,01%, 0,1%, 1%, 2%, 5%, 10%, 25%, ou 50% chez les MCR400 comparé aux MC.

REVENDECATIONS

1. Une particule comprenant :

au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique et une substance luminescente attachée à ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer par des liaisons chimiques faibles, ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer comprend un cœur et/ou un revêtement synthétisé chimiquement,

lesdites liaisons chimiques faibles sont des liaisons chimiques non covalentes ou non-métalliques, où lesdites liaisons chimiques faibles sont choisies parmi :

(A) des liaisons chimiques formées par des interactions dipôle-dipôle, des forces de Van der Waals, des forces de dispersion de London, des forces de Debye, des liaisons hydrogène, des forces intermoléculaires, des interactions hydrophobes, des interactions hydrophiles, ou des interactions électrostatiques, ou

(B) des liaisons chimiques ayant une constante de dissociation (K_D) inférieure à 1 ;

où lesdites liaisons chimiques faibles sont rompues et la substance luminescente subit une dissociation de ladite au moins une nanoparticule ferrimagnétique ou ferromagnétique d'oxyde de fer lors de l'application d'un rayonnement sur ladite particule ou lors d'une variation de température ou de pH ou de potentiel d'oxydoréduction de la particule;

où la particule est caractérisée en ce que :

i) la luminescence de ladite substance luminescente attachée à ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer est atténuée par ladite nanoparticule d'oxyde de fer, et

ii) ladite dissociation de la substance luminescente de ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer conduit à une augmentation de la luminescence de ladite substance luminescente ; et

où ledit rayonnement est choisi parmi un rayonnement ondulatoire ou particulaire, une radiation acoustique, une radiation ionisante, une radiation rayon X, une radiation électromagnétique, une radiation par application d'un champ électrique, magnétique ou électromagnétique, ou une radiation causée par les neutrons, les protons, les électrons, des positrons, les particules alpha, bêta ou gamma, des neutrinos ou muons;

ledit K_D est calculé comme un rapport α/β , où α est la concentration de la substance luminescente mesurée après soit que la radiation soit appliquée sur la particule, soit que la température ou le pH ou le potentiel d'oxydoréduction de la particule est modifié, et β est la concentration de la substance luminescente mesurée avant soit que la radiation ne soit appliquée à la particule, soit que la température ou le pH ou le potentiel d'oxydoréduction de la particule ne soit varié, respectivement.

2. Particule selon la revendication 1, dans laquelle la radiation acoustique est une radiation ultrasonore.
3. Particule selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle la concentration de la substance luminescente pendant le calcul de K_D correspond à la concentration de la substance luminescente attachée à la nanoparticule.
4. Particule selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle la radiation ou la variation de la température ou du pH ou du potentiel d'oxydo-réduction de la particule est capable d'induire une transition d'un état inactivé à un état activé de la particule, où un état activé est un état dans lequel il existe une variation d'au moins une propriété de luminescence de la particule.
5. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans laquelle la substance luminescente est sélectionnée dans le groupe constitué de:
 - (i) un médicament,
 - (ii) une substance luminescente qui est utilisée pour l'imagerie pour applications médicales, thérapeutiques, diagnostiques, cosmétiques ou biologiques,
 - (iii) une substance pharmaceutique luminescente avec une fonction chimique choisie parmi le groupe constitué par l'acide carboxylique, l'acide phosphorique, l'acide sulfonique, l'ester, l'amide, fonctions cétone, alcool, phénol, thiol, amine, éther, sulfure, acide anhydride, halogénure d'acyle, amidine, nitrile, hydroperoxyde, imine, aldéhyde, peroxyde, et un composé acide, un composé basique, un composé oxydé, un composé réduit, un composé neutre et un composé chargé positivement ou négativement dérivé de ces fonctions,
 - (v) une substance pharmaceutique luminescente qui est une substance thérapeutique, un agent de diagnostic, un agent de contraste, un agent anticancéreux, un antibactérien, un anti-inflammatoire, un anesthésique, un analgésique, un antibiotique, un antidépresseur, un antidiurétique, un antihistaminique, un antihypertenseur, un antipyrétique, un antiviral, un antitussif, un anxiolytique, un bronchodilatateur, un diurétique, un laxatif, un psychotrope, un sédatif ou vasopresseur,
 et
 - (vi) une substance luminescente pharmaceutique qui a plus d'efficacité et/ou moins de toxicité lorsqu'elle est associée à la particule que lorsqu'elle est sous forme libre non attachée.
6. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans laquelle ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer est synthétisée par un organisme vivant.

7. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle la substance luminescente est stable dans des conditions de fonctionnement, ladite stabilité signifie que la dissociation de la substance luminescente n'entraîne pas une destruction partielle ou totale de la substance luminescente, où ladite destruction partielle ou totale comprend au moins :

- une dénaturation de la substance luminescente,
- une perte d'au moins 10^{10} atomes de la substance luminescente,
- une perte de poids d'au moins 90 % de la substance luminescente,
- une diminution de plus de 90 % de la luminescence de la substance luminescente, ou
- une perte de propriété thérapeutique ou diagnostique de la substance luminescente.

8. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, dans laquelle la substance luminescente est un chromophore ou un fluorophore.

9. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, dans laquelle la substance luminescente est associée à au moins une nanoparticule d'oxyde de fer d'au moins une manière choisie parmi le groupe consistant en :

la substance luminescente est en contact direct avec ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer de telle sorte qu'il n'y a aucune substance entre elles,

et

la substance luminescente est en contact indirect avec ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer de telle sorte qu'au moins une substance, un polymère ou un solvant est placé entre la nanoparticule et la substance luminescente.

10. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, dans laquelle une sonde particulière ne comprend pas de cristaux liquides, de dendrimères, plus de 90 % en masse de carbone ou de matière organique provenant d'un organisme vivant, ou plus de 10^3 unités d'endotoxine par mg de particule.

11. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, dans laquelle ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer a au moins une propriété sélectionnée dans le groupe constitué de :

un noyau cristallisé d'oxyde de fer,

un revêtement, dans lequel le revêtement fournit au moins une propriété sélectionnée dans le groupe consistant de permettre un transfert d'énergie ou de particules alpha, bêta ou gamma entre la substance luminescente et ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer, stabiliser ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer, rendre ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer

biocompatible, favoriser l'internalisation cellulaire de ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer, et coupler ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer à différentes substances,

un seul domaine magnétique,

un arrangement de chaîne,

une taille mesurée, avec ou sans revêtement, comprise entre 1 nm et 1 μ m,

une charge, éventuellement variable en fonction du pH, avec ou sans revêtement, et

capable de favoriser l'internalisation cellulaire,

au moins un atome de fer et au moins un atome d'oxygène avec des moments magnétiques antiparallèles conférant des propriétés ferrimagnétiques,

au moins un atome de fer et au moins un atome d'oxygène avec des moments magnétiques parallèles conférant des propriétés ferromagnétiques, et

ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer est responsable de la dissociation de la substance luminescente de ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer, et/ou d'une modification chimique de la substance luminescente, suite à l'application d'un rayonnement sur ladite particule ou lors d'une variation de température ou de pH ou de potentiel d'oxydoréduction de la particule.

12. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans laquelle le rapport surface/volume est entre 10^{-10} et 10^3 nm^{-1} .

13. Particule selon l'une quelconque des revendications 7 à 12, dans laquelle la substance luminescente a au moins une propriété choisie dans le groupe constitué par :

- (i) une énergie ou une particule transférée à ou reçue de la nanoparticule d'oxyde de fer,
- (ii) une distance séparant la substance luminescente de la nanoparticule d'oxyde de fer inférieure à 1 cm ou inférieure à 100 fois la distance de Förster,
- (iii) une caractéristique d'un donneur ou d'un accepteur dans une terminologie utilisée pour décrire le transfert de Förster,
- (iv) une durée de vie de luminescence, une intensité de luminescence, une longueur d'onde d'émission de luminescence, une longueur d'onde d'excitation de luminescence ou anisotropie de luminescence,
- (v) une propriété luminescente mesurée lorsque la substance luminescente est libre (non attachée), qui est différent de celle de la substance luminescente liée à la nanoparticule d'oxyde de fer,
- (vi) une variation de durée de vie ou d'intensité de luminescence mesurable,

(vii) une propriété de luminescence ou une variation de cette propriété déterminée à la surface de la particule, dans la particule ou nanoparticule d'oxyde de fer, ou sur une distance mesurée depuis le centre de la particule ou nanoparticule jusqu'à 1 m,

(viii) une propriété de luminescence mesurable dans le temps ou en fonction de la position de la particule ou nanoparticule,

(ix) une propriété de luminescence qui subit une variation mesurable dans le temps ou en fonction de la position de la particule ou nanoparticule d'oxyde de fer, et

(x) un temps de vie de la substance luminescente libre (non attachée à l'oxyde de fer

nanoparticule) qui est supérieur à 0,5 ns.

14. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, dans laquelle la nanoparticule d'oxyde de fer a au moins une propriété sélectionnée dans le groupe constitué par :

(i) un matériau contenu dans son cœur et/ou son revêtement qui absorbe à la longueur d'onde d'émission de la substance luminescente,

(ii) une taille supérieure à 0,1 nm, et

(iii) une cristallinité, qui permet un transfert d'énergie et de particules alpha, bêta ou gamma, entre la nanoparticule d'oxyde de fer et la substance luminescente.

15. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, dans laquelle la substance luminescente est sélectionnée dans le groupe constitué de : l'ADN luminescent, ARN luminescent, une allophycocyanine (APC), un conjugué APC, une cyanine (Cy), une APC-Cy7, une aminocoumarine, une acridine orange, un 7-AAD, une azurite, AmCyan1, AcGFP1, Azami-Green, AsRed2, bromure d'éthidium, une cellule luminescente, la calcéine, la coumarine, un colorant organique, une chromomycine bleue cascade A3, un céruléen, une enzyme luminescente, une fluorescéine, une hydroxycoumarine, propidium iode, une luciférase, un lipide luminescent, un lanthanide, une méthoxycoumarine, une mithramycine, un nanocrystal semi-conducteur, une protéine luminescente, une substance luminescente contenue dans un kit de marquage d'anticorps, un tissu luminescent, et une substance ayant au moins un atome, une molécule, un groupe chimique luminescent en commun avec les substances luminescentes susmentionnées.

16. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, dans laquelle la substance luminescente comprend au moins une propriété sélectionnée dans le groupe constitué de :

(i) au moins une fonction chimique choisie dans le groupe constitué de : groupes fonctionnels acide carboxylique, acide phosphorique, acide sulfonique, ester, amide, cétone, alcool, phénol, amine, éther, sulfure, anhydride d'acide, halogénure d'acyle, amidine, nitrile, hydroperoxyde, imine, aldéhyde, peroxyde, et un acide, une base, un oxyde et un dérivé réduit, neutre ou chargé positivement ou négativement de l'au moins une fonction,

(ii) au moins une propriété d'un chromophore ou d'un fluorophore,

(iii) une énergie ou une particule transférée à la nanoparticule ou reçue de la nanoparticule, cette énergie ou échange de particules subatomiques étant éventuellement un transfert de Förster ou Dexter, et

(iv) une distance séparatrice la séparant de la nanoparticule inférieure à 1 cm.

17. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 16, étant un médicament, un agent cosmétique, une substance thérapeutique, un agent de contraste ou de diagnostic.

18. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, où ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer n'est pas liée à la substance luminescente par au moins un acide nucléique ou au moins un acide aminé.

19. Une particule comprenant :

i) au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique, ii) une substance, un polymère ou un solvant et iii) une substance luminescente, attachée à ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer par des liaisons chimiques faibles, ladite substance, ledit polymère ou ledit solvant étant positionné entre la nanoparticule d'oxyde de fer et la substance luminescente, ladite substance étant choisie dans le groupe constitué d'une protéine, d'un lipide, d'une enzyme, ADN, un brin d'ADN, ARN, un brin d'ARN, un ou plusieurs acide(s) nucléique(s), un ou plusieurs un ou plusieurs acides aminés, une substance biologique, de la streptavidine, de la biotine et leurs combinaisons, lesdites liaisons chimiques faibles sont des liaisons chimiques non covalentes ou non-métalliques, ou lesdites liaisons chimiques faibles sont choisies parmi :

(A) des liaisons chimiques formées par des interactions dipôle-dipôle, des forces de Van der Waals, des forces de dispersion de London, des forces de Debye, des liaisons hydrogène, des forces intermoléculaires, des interactions hydrophobes, des interactions hydrophiles, ou des interactions électrostatiques, ou

(B) des liaisons chimiques ayant une constante de dissociation (K_D) inférieure à 1 ;

où lesdites liaisons chimiques faibles sont rompues et la substance luminescente subit une dissociation de ladite au moins une nanoparticule ferrimagnétique ou ferromagnétique d'oxyde de fer lors de l'application d'un rayonnement sur ladite particule ou lors d'une variation de température ou de pH ou de potentiel d'oxydoréduction de la particule;

où la particule est caractérisée en ce que :

i) la luminescence de ladite substance luminescente attachée à ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer est atténuée par ladite nanoparticule d'oxyde de fer, et

ii) ladite dissociation de la substance luminescente de ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer conduit à une augmentation de la luminescence de ladite substance luminescente ; et

où ledit rayonnement est choisi parmi un rayonnement ondulatoire ou particulaire, une radiation acoustique, une radiation ionisante, une radiation rayon X, une radiation électromagnétique, une radiation par application d'un champ électrique, magnétique ou électromagnétique, ou une radiation causée par les neutrons, les protons, les électrons, des positrons, les particules alpha, bêta ou gamma, des neutrinos ou muons;

ledit K_D est calculé comme un rapport α/β , où α est la concentration de la substance luminescente mesurée après soit que la radiation soit appliquée sur la particule, soit que la température ou le pH ou le potentiel d'oxydoréduction de la particule est modifié, et β est la concentration de la substance luminescente mesurée avant soit que la radiation ne soit appliquée à la particule, soit que la température ou le pH ou le potentiel d'oxydoréduction de la particule ne soit varié.

20. Particule selon la revendication 19, dans laquelle la radiation acoustique est une radiation ultrasonore.

21. Particule selon la revendication 19 ou 20, dans laquelle la concentration de la substance luminescente pendant le calcul de K_D correspond à la concentration de la substance luminescente attachée à la nanoparticule.

22. Particule selon la revendication 19 ou 20, dans laquelle la radiation ou la variation de la température ou du pH ou du potentiel d'oxydo-réduction de la particule est capable d'induire une transition d'un état inactivé à un état activé de la particule, où un état activé est un état dans lequel il existe une variation d'au moins une propriété de luminescence de la particule.

23. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 22, dans laquelle la substance luminescente est sélectionnée dans le groupe constitué de:

(i) un médicament,

(ii) une substance luminescente qui est utilisée pour l'imagerie pour applications médicales, thérapeutiques, diagnostiques, cosmétiques ou biologiques,

(iii) une substance pharmaceutique luminescente avec une fonction chimique choisie parmi le groupe constitué par l'acide carboxylique, l'acide phosphorique, l'acide sulfonique, l'ester, l'amide, fonctions cétone, alcool, phénol, thiol, amine, éther, sulfure, acide anhydride, halogénure d'acyle, amidine, nitrile, hydroperoxyde, imine, aldéhyde, peroxyde, et un composé acide, un composé basique, un composé oxydé, un composé réduit, un composé neutre et un composé chargé positivement ou négativement dérivé de ces fonctions,

(v) une substance pharmaceutique luminescente qui est une substance thérapeutique, un agent de diagnostic, un agent de contraste, un agent anticancéreux, un antibactérien, un anti-inflammatoire, un anesthésique, un analgésique, un antibiotique, un antidépresseur, un antidiurétique, un antihistaminique, un antihypertenseur, un antipyrétique, un antiviral, un antitussif, un anxiolytique, un bronchodilatateur, un diurétique, un laxatif, un psychotrope, un sédatif ou vasopresseur, et

(vi) une substance luminescente pharmaceutique qui a plus d'efficacité et/ou moins de toxicité lorsqu'elle est associée à la particule que lorsqu'elle est sous forme libre non attachée.

24. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 23, dans laquelle ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer est synthétisée par un organisme vivant.

25. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 24, dans laquelle la substance luminescente est stable dans des conditions de fonctionnement, ladite stabilité signifie que la dissociation de la substance luminescente n'entraîne pas une destruction partielle ou totale de la substance luminescente, où ladite destruction partielle ou totale comprend au moins :

- une dénaturation de la substance luminescente,
- une perte d'au moins 10^{10} atomes de la substance luminescente,
- une perte de poids d'au moins 90 % de la substance luminescente,
- une diminution de plus de 90 % de la luminescence de la substance luminescente, ou
- une perte de propriété thérapeutique ou diagnostique de la substance luminescente.

26. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 25, dans laquelle la substance luminescente est un chromophore ou un fluorophore.

27. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 26, dans laquelle la substance luminescente est associée à au moins une nanoparticule d'oxyde de fer d'au moins une manière choisie parmi le groupe consistant en :

la substance luminescente est en contact direct avec ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer de telle sorte qu'il n'y a aucune substance entre elles,

et

la substance luminescente est en contact indirect avec ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer de telle sorte qu'au moins une substance, un polymère ou un solvant est placé entre la nanoparticule et la substance luminescente.

28. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 27, dans laquelle une sonde particulière ne comprend pas de cristaux liquides, de dendrimères, plus de 90 % en masse de carbone ou de matière organique provenant d'un organisme vivant, ou plus de 10^3 unités d'endotoxine par mg de particule.

29. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 28, dans laquelle ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer a au moins une propriété sélectionnée dans le groupe constitué de :

un noyau cristallisé d'oxyde de fer,

un revêtement, dans lequel le revêtement fournit au moins une propriété sélectionnée dans le groupe consistant de permettre un transfert d'énergie ou de particules alpha, bêta ou gamma entre la substance luminescente et ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer, stabiliser ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer, rendre ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer biocompatible, favoriser l'internalisation cellulaire de ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer, et coupler ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer à différentes substances,

un seul domaine magnétique,

un arrangement de chaîne,

une taille mesurée, avec ou sans revêtement, comprise entre 1 nm et 1 μ m,

une charge, éventuellement variable en fonction du pH, avec ou sans revêtement, et

capable de favoriser l'internalisation cellulaire,

au moins un atome de fer et au moins un atome d'oxygène avec des moments magnétiques antiparallèles conférant des propriétés ferrimagnétiques,

au moins un atome de fer et au moins un atome d'oxygène avec des moments magnétiques parallèles conférant des propriétés ferromagnétiques, et

ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer est responsable de la dissociation de la substance luminescente de ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer, et/ou d'une

modification chimique de la substance luminescente, suite à l'application d'un rayonnement sur ladite particule ou lors d'une variation de température ou de pH ou de potentiel d'oxydoréduction de la particule.

30. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 29, dans laquelle ladite substance, ledit polymère ou solvant ont au moins une caractéristique sélectionnée dans le groupe constitué de :

- (i) ayant au moins un atome reçu d'une protéine, d'un lipide, d'un ADN ou d'un ARN, et
- (ii) représentant moins de 90 % de la masse de ladite nanoparticule d'oxyde de fer.

31. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 30, dans laquelle le rapport surface/volume est entre 10^{-10} et 10^3 nm^{-1} .

32. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 31, dans laquelle la substance luminescente a au moins une propriété choisie dans le groupe constitué par :

- (i) une énergie ou une particule transférée à ou reçue de la nanoparticule d'oxyde de fer,
- (ii) une distance séparant la substance luminescente de la nanoparticule d'oxyde de fer inférieure à 1 cm ou inférieure à 100 fois la distance de Förster,
- (iii) une caractéristique d'un donneur ou d'un accepteur dans une terminologie utilisée pour décrire le transfert de Förster,
- (iv) une durée de vie de luminescence, une intensité de luminescence, une longueur d'onde d'émission de luminescence, une longueur d'onde d'excitation de luminescence ou anisotropie de luminescence,
- (v) une propriété luminescente mesurée lorsque la substance luminescente est libre (non attachée), qui est différent de celle de la substance luminescente liée à la nanoparticule d'oxyde de fer,
- (vi) une variation de durée de vie ou d'intensité de luminescence mesurable,
- (vii) une propriété de luminescence ou une variation de cette propriété déterminée à la surface de la particule, dans la particule ou nanoparticule d'oxyde de fer, ou sur une distance mesurée depuis le centre de la particule ou nanoparticule jusqu'à 1 m,
- (viii) une propriété de luminescence mesurable dans le temps ou en fonction de la position de la particule ou nanoparticule,
- (ix) une propriété de luminescence qui subit une variation mesurable dans le temps ou en fonction de la position de la particule ou nanoparticule d'oxyde de fer, et

(x) un temps de vie de la substance luminescente libre (non attachée à l'oxyde de fer nanoparticule) qui est supérieur à 0,5 ns.

33. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 32, dans laquelle la nanoparticule d'oxyde de fer a au moins une propriété sélectionnée dans le groupe constitué par :

(i) un matériau contenu dans son cœur et/ou son revêtement qui absorbe à la longueur d'onde d'émission de la substance luminescente,

(ii) une taille supérieure à 0,1 nm, et

(iii) une cristallinité, qui permet un transfert d'énergie et de particules alpha, bêta ou gamma, entre la nanoparticule d'oxyde de fer et la substance luminescente.

34. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 33, dans laquelle la substance luminescente est sélectionnée dans le groupe constitué de : l'ADN luminescent, ARN luminescent, une allophycocyanine (APC), un conjugué APC, une cyanine (Cy), une APC-Cy7, une aminocoumarine, une acridine orange, un 7-AAD, une azurite, AmCyan1, AcGFP1, Azami-Green, AsRed2, bromure d'éthidium, une cellule luminescente, la calcéine, la coumarine, un colorant organique, une chromomycine bleue cascade A3, un céruléen, une enzyme luminescente, une fluorescéine, une hydroxycoumarine, propidium iode, une luciférase, un lipide luminescent, un lanthanide, une méthoxycoumarine, une mithramycine, un nanocrystal semi-conducteur, une protéine luminescente, une substance luminescente contenue dans un kit de marquage d'anticorps, un tissu luminescent, et une substance ayant au moins un atome, une molécule, un groupe chimique luminescent en commun avec les substances luminescentes susmentionnées.

35. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 34, dans laquelle la substance luminescente comprend au moins une propriété sélectionnée dans le groupe constitué de :

(i) au moins une fonction chimique choisie dans le groupe constitué de : groupes fonctionnels acide carboxylique, acide phosphorique, acide sulfonique, ester, amide, cétone, alcool, phénol, amine, éther, sulfure, anhydride d'acide, halogénure d'acyle, amidine, nitrile, hydroperoxyde, imine, aldéhyde, peroxyde, et un acide, une base, un oxyde et un dérivé réduit, neutre ou chargé positivement ou négativement de l'au moins une fonction,

(ii) au moins une propriété d'un chromophore ou d'un fluorophore, et

- (iii) une énergie ou une particule transférée à la nanoparticule ou reçue de la nanoparticule, cette énergie ou échange de particules subatomiques étant éventuellement un transfert de Förster ou Dexter, et
- (iv) une distance séparatrice la séparant de la nanoparticule inférieure à 1 cm.

36. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 35, étant un médicament, un agent cosmétique, une substance thérapeutique, un agent de contraste ou de diagnostic.

37. Particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 36, dans laquelle ledit comportement ferrimagnétique ou ferromagnétique est caractérisé par au moins une des propriétés suivantes :

- (i) une coercivité supérieure à 1 Oe,
- (ii) un rapport entre l'aimantation rémanente et l'aimantation à saturation supérieur à 0,01,
- (iii) une magnétisation à saturation supérieure à 0,1 emu par gramme de nanoparticule d'oxyde de fer, et
- (iv) un débit d'absorption spécifique supérieur à 0,01 Watt par gramme de nanoparticule d'oxyde de fer.

38. Particule selon la revendication 37, caractérisée en ce que la coercivité, le rapport entre aimantation rémanente et aimantation à saturation, ou l'aimantation à saturation, sont mesurés à une température supérieure à 0,1K.

39. Particule selon l'une quelconque des revendications 19 à 38, où ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer n'est pas liée à la substance luminescente par au moins un acide nucléique ou au moins un acide aminé.

40. Méthode de détection d'un système d'intérêt en détectant et en analysant l'augmentation de luminescence d'une sonde particulaire introduite dans ledit système, comprenant :

- 1) placer dans le système d'intérêt la sonde particulaire comprenant la particule selon l'une quelconque des revendications 1 à 39,
- 2) irradier ladite sonde particulaire avec une radiation choisie parmi une radiation ondulante ou particulaire, une radiation acoustique, une radiation ionisante, une radiation rayon X, une radiation électromagnétique, une radiation par application d'un champ électrique, magnétique ou électromagnétique, une radiation par application de neutrons, de protons, d'électrons, ou exposer ladite particule à une variation de température ou de pH ou de potentiel d'oxydoréduction de la particule; et

3) détecter et analyser l'augmentation de luminescence de la sonde particulaire pour obtenir informations sur le système.

41. Méthode selon la revendication 40, dans laquelle la radiation acoustique est une radiation ultrasonore.

42. Méthode selon la revendication 40 ou 41, dans laquelle ladite luminescence augmente en raison de la dissociation et séparation de la substance luminescente de ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferromagnétique ou ferrimagnétique et la distanciation de la substance luminescente de la nanoparticule dans un environnement de ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferrimagnétique ou ferromagnétique.

43. Méthode selon la revendication 42, où ledit environnement est un liquide, un milieu solide ou gazeux ou au moins une substance différente de ladite substance luminescente, qui entoure ou comprend la particule sur une distance mesurée à partir du centre ou de l'extérieur surface de la particule.

44. Méthode selon la revendication 43, selon laquelle la distance est inférieure à 1 m.

45. Méthode selon l'une quelconque des revendications 40 à 43, dans laquelle la dissociation de la substance luminescente de la nanoparticule d'oxyde de fer a au moins un procédé sélectionné dans le groupe constitué par :

(i) une dissociation réversible impliquant la dissociation de la substance luminescente de la nanoparticule d'oxyde de fer ou une modification chimique réversible suivie d'un retour à un état initial de la particule obtenu lorsque la particule est inactivée,

(ii) une dissociation totale impliquant la totalité de la substance luminescente,

(iii) une dissociation ou une modification associée à un mouvement, une translation, une oscillation, ou une vibration de la substance luminescente ou de la nanoparticule d'oxyde de fer,

(iv) une dissociation ou une modification associée à un couplage entre un champ électromagnétique, la substance luminescente et la nanoparticule d'oxyde de fer,

(v) une dissociation ou modification suivie d'une diffusion de la substance luminescente ou une partie de celle-ci dans l'environnement de la particule, et

(vi) une dissociation ou une modification liée à une variation locale de luminescence, se produisant lorsque la substance luminescente a diffusé à une certaine distance mesurée du centre de la nanoparticule d'oxyde de fer.

46. Méthode selon l'une quelconque des revendications 40 à 45, dans laquelle l'augmentation de la luminescence est caractérisée par au moins une propriété choisie dans le groupe constitué de :

- (i) une augmentation continue de la luminescence, se produisant dans le temps, et
- (ii) une pente à l'origine, $\Delta L/\delta t$, où ΔL représente une variation initiale de l'intensité de luminescence, où δt représente une durée démarrant au début de l'augmentation de la luminescence, qui est déterminée au cours des premières secondes ou minutes suivant l'application de la radiation sur la particule ou suivant la variation de température ou du pH ou du potentiel d'oxydoréduction de la particule,

où ladite au moins une propriété est caractérisée par au moins une caractéristique sélectionnée dans le groupe composé de :

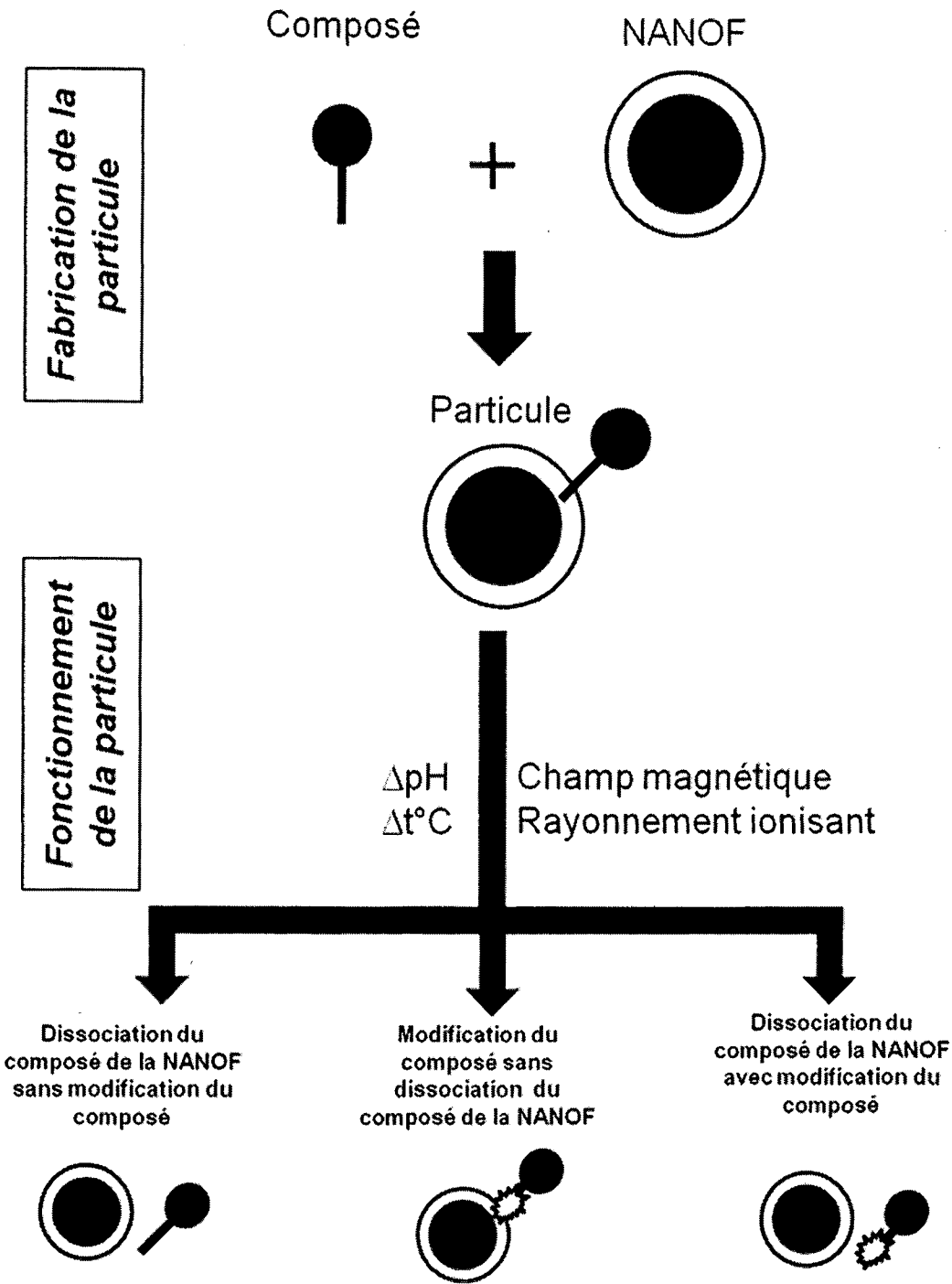
a) ladite au moins une propriété est due à : (a) la modification d'un transfert d'énergie ou de particule entre la substance luminescente et la nanoparticule, ou (b) une modification de la distance séparant la substance luminescente et la nanoparticule,

b) ladite au moins une propriété se produit lorsque ladite particule entre en interaction avec une substance, qui est synthétique ou non synthétique, et

c) ladite au moins une propriété est telle que la radiation ou la variation de la température ou pH ou potentiel d'oxydoréduction de la particule appliqué à la substance luminescente libre, qui n'est pas attachée à ladite au moins une nanoparticule d'oxyde de fer ferromagnétique ou ferrimagnétique, induit une variation de luminescence.

47. Méthode selon la revendication 46, dans laquelle l'augmentation continue de la luminescence se produit sur une période de temps supérieure à 10^{-10} secondes.

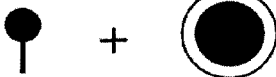
Figure 1



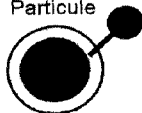
Composé

NANOF

Fabrication de la
particule



Particule



Fonctionnement
de la particule

ΔpH
 $\Delta t^{\circ}C$

Champ magnétique
Rayonnement ionisant

Dissociation du
composé de la NANOF
sans modification du
composé



Modification du
composé sans
dissociation du
composé de la NANOF



Dissociation du
composé de la NANOF
avec modification du
composé

