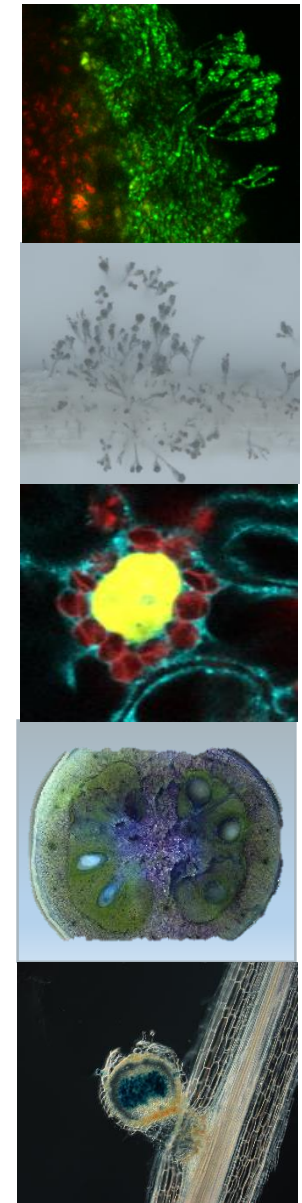
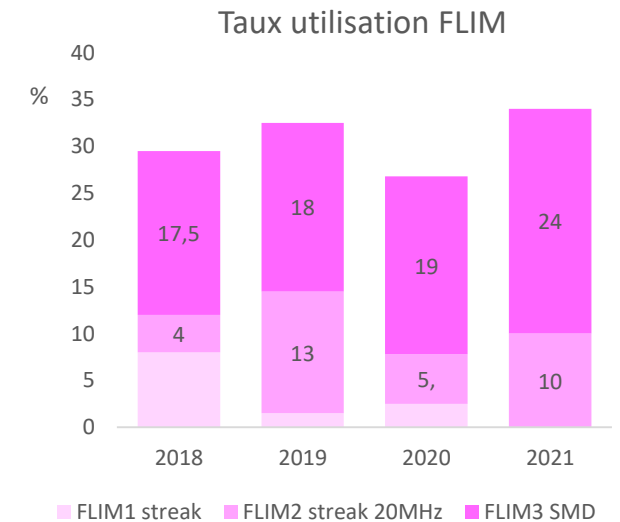
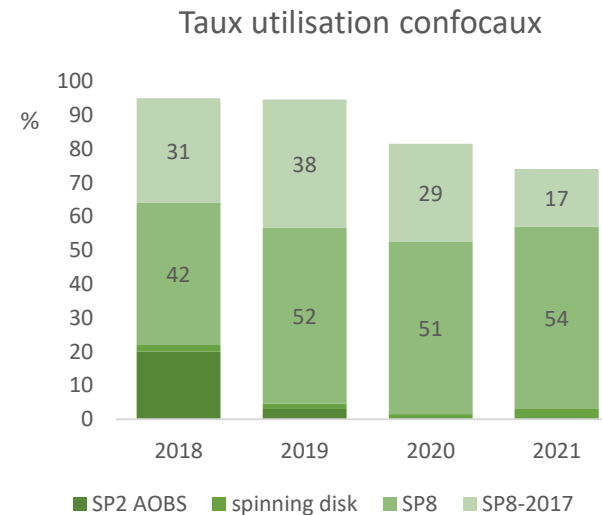
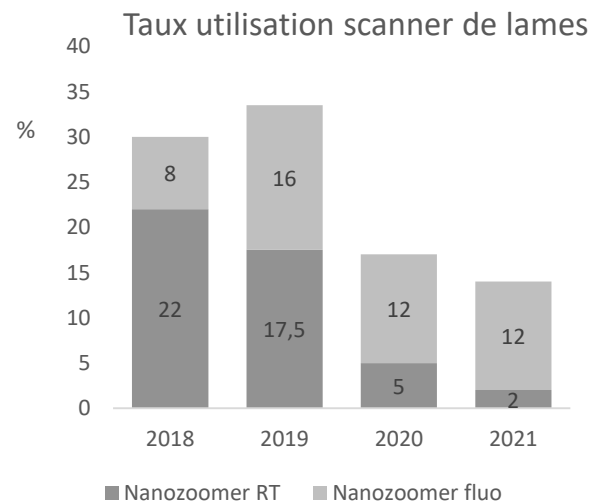
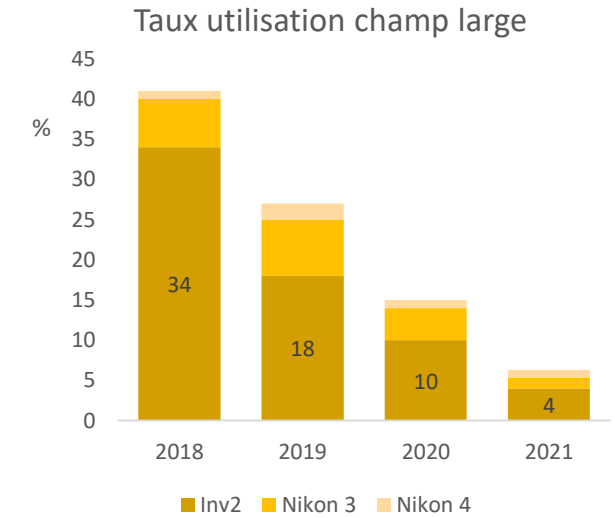
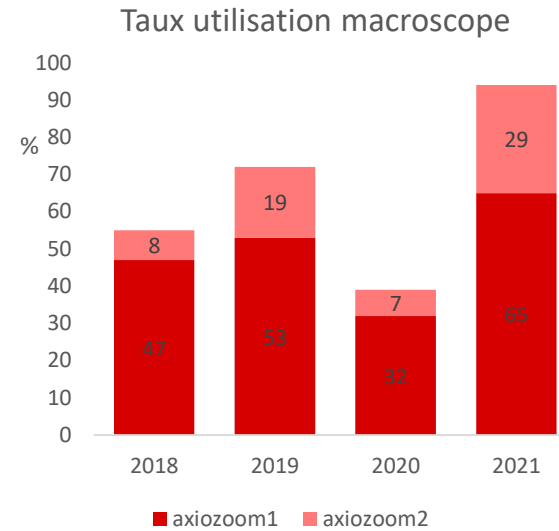
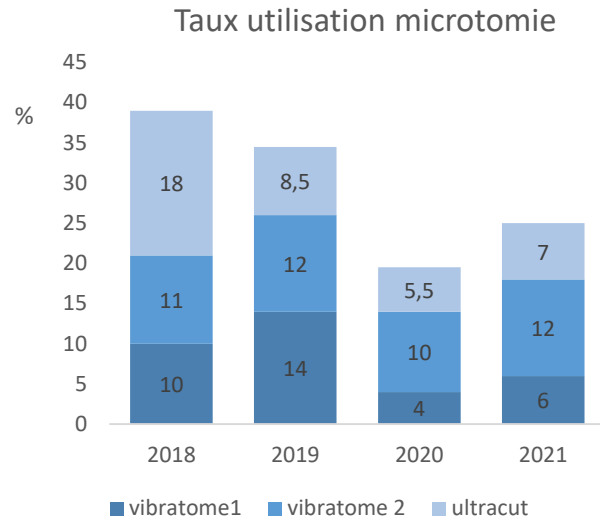


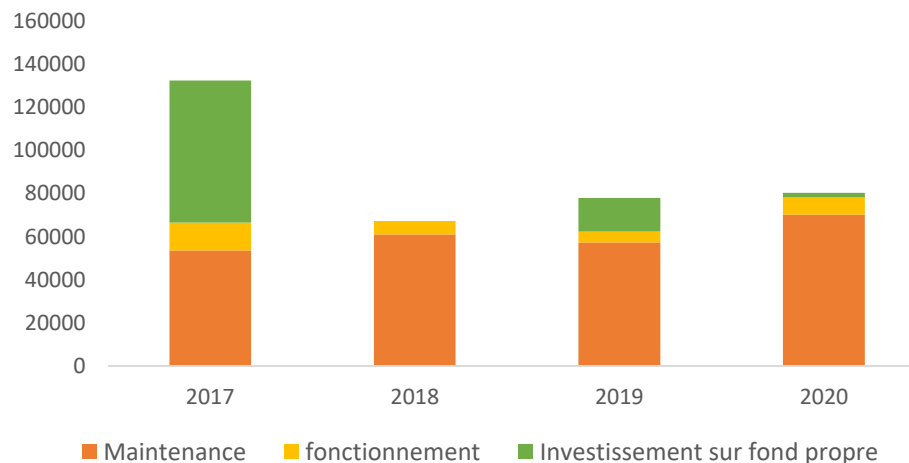
Plateforme Imagerie TRI-FRAIB BILAN ET PERSPECTIVES

Cécile Pouzet
Aurélien Le Ru & Yves Martinez

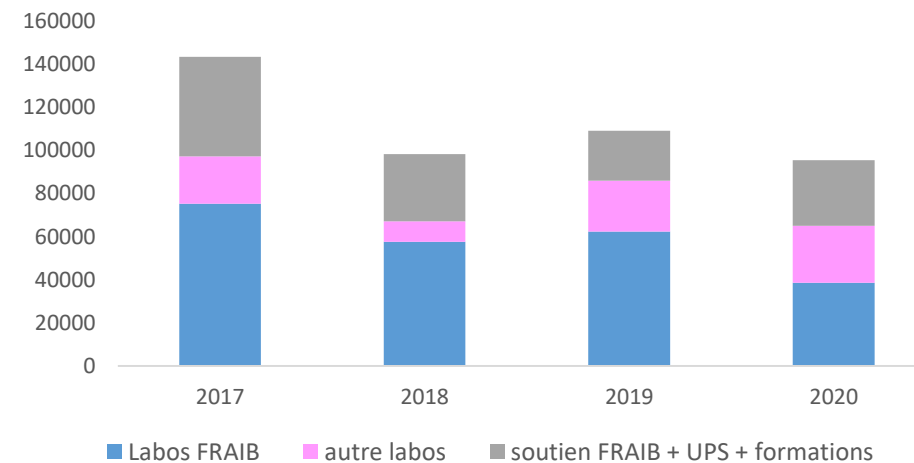
Evolution utilisation équipements



Dépenses 2017-2020



Recettes 2017-2020



Investissement via AO spécifique plateforme (PF TRI)

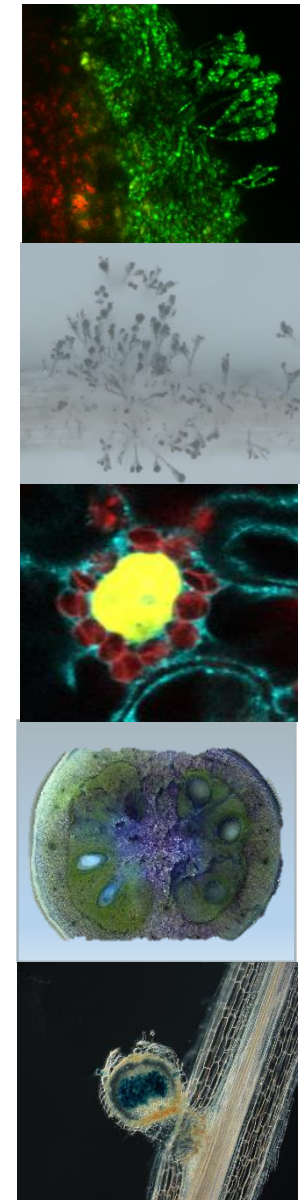
IBiSA (tous les 2 ans)

CPER (tous les 5-6 ans)

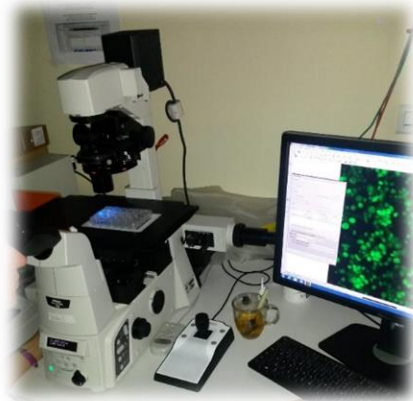
FEDER (Europe + Région +/- Sté privée régionale, au fil de l'eau)



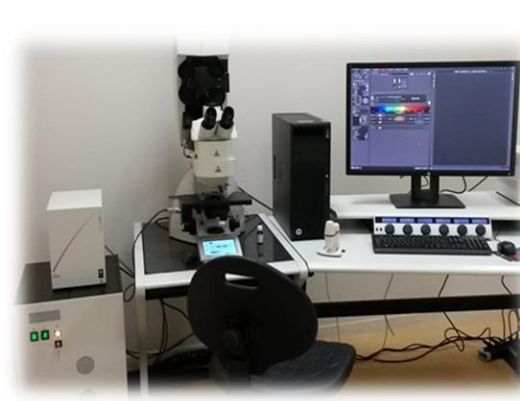
2009	CPER 2005-2010	Microdissecteur laser	126k€
2011	CPER 2005-2010	Spinning disk	316k€
	FEDER/Région Diop-TRI	Nanozoomer	190k€
	FEDER/Région Diop-TRI + IBiSA	Bioluminescence	80k€
2013	IBiSA + UPS + fond propre	Axiozoom1	70k€
2015	CPER 2015-2020 (PRISM)/IDEX (GoAhead)	SP8	250k€
	CPER 2015-2020 (PRISM) /IDEX (GoAhead)	SP8-SMD	250k€
2016	Fond propre	Axiozoom2	28k€
	Fond propre + soutien CNRS + UPS + labos	SP8-2017	160k€
2017	IBiSA + fond propre	Streak camera (FLIM2)	122k€
2018	FEDER Biocontrôle	Scanner tiroir + A3	250k€
	FEDER Biocontrôle	Keyence	
2019	FEDER Biocontrôle	Axiozoom phenotypage	
2021	FEDER Biocontrôle	Logiciels analyse	



Macroscope



Microscope champ large



Microscope Confocal



Microscope FLIM SMD



Microdissection laser



Scanner de lames



Microscope confocal rapide



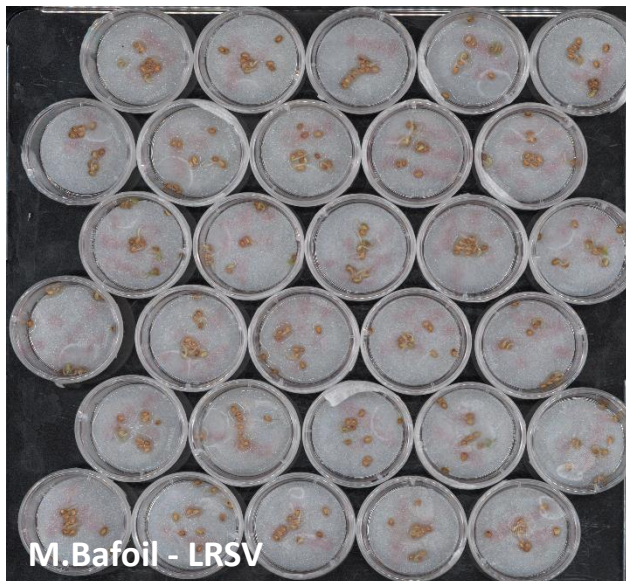
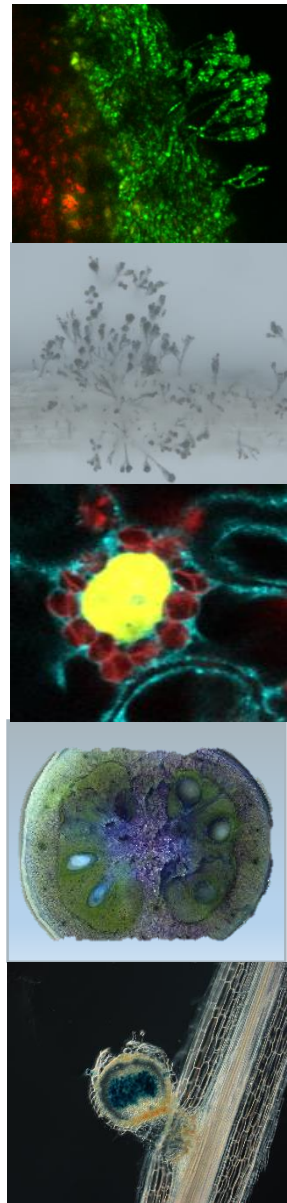
Microscope FLIM
streak camera

Exemples de projets en cours:

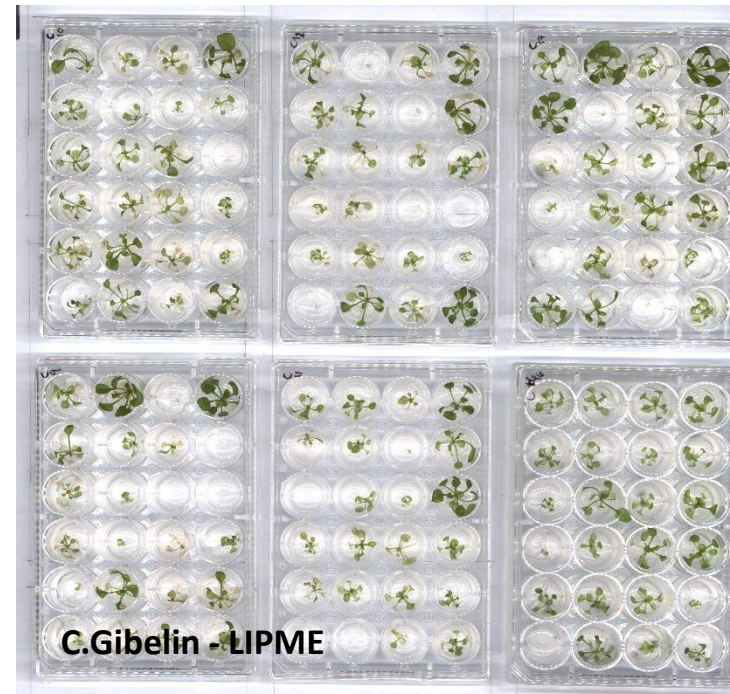
- LRSV (Eq. C.Dunand) : Identification de nouveaux produits actifs sur la croissance et le développement des plantes.
- LIPME (Eq. F.Roux): Evaluation de l'effet de bactéries commensales sur la croissance d'arabettes
- Labcom Bioplantprotect (Eq T.Rey): Phénotypage de plantes infectées par différents pathogènes



Scanners



M.Bafoil - LRSV



C.Gibelin - LIPME

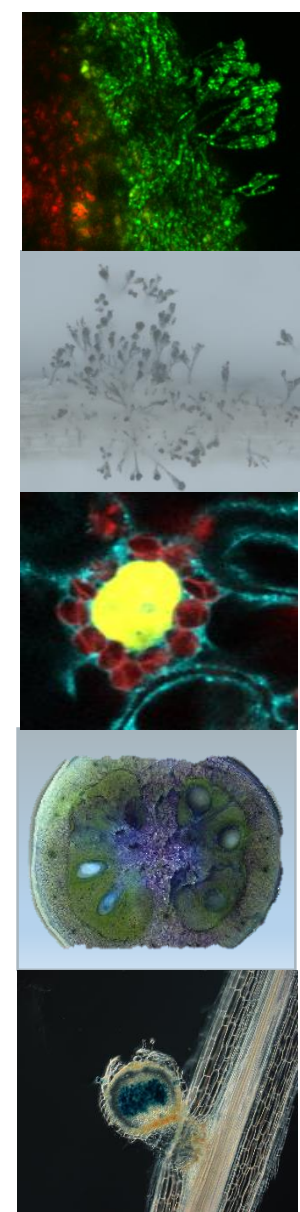
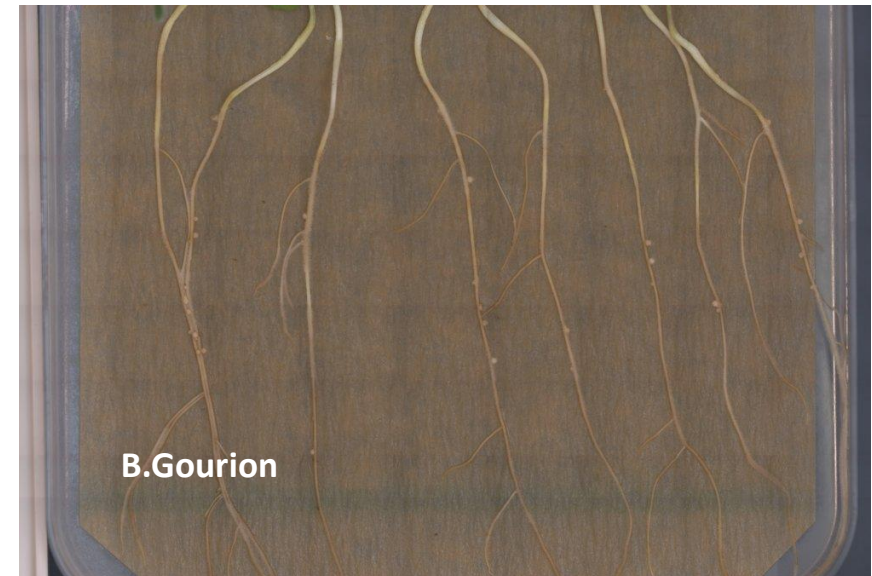
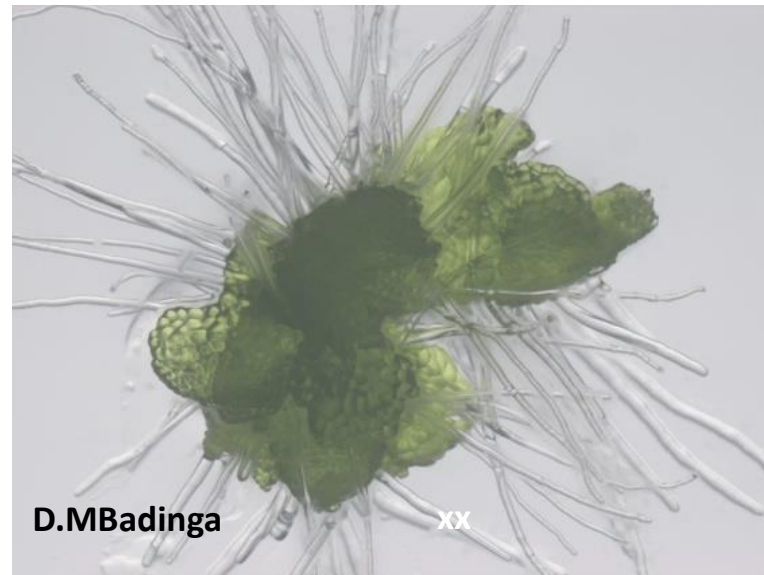


R.Pendaries - LabCom

Exemples de projets en cours:

- LRSV (Eq. C.Dunand) : Cinétique de développement de lignées de marchantia
- LIPME (Eq. C.Bruand): Etude de la croissance racinaire et de la nodulation sur des plantes de *Medicago truncatula*

Macroscopie phénotypage

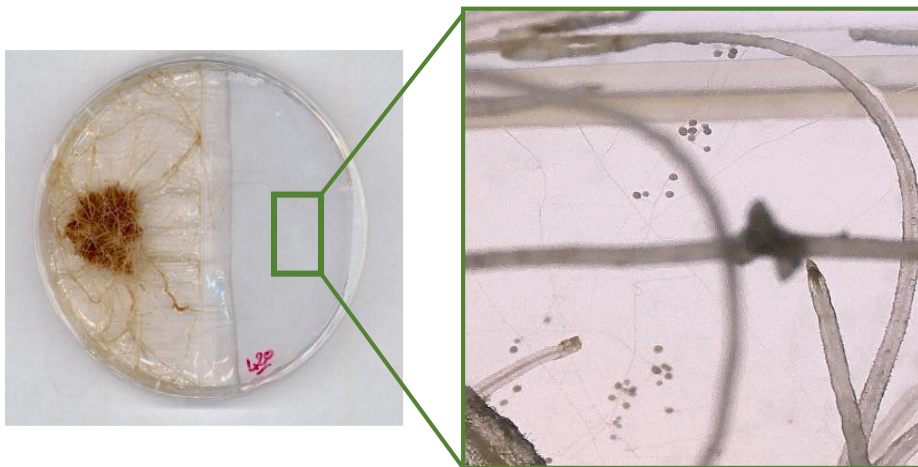


Exemples de projets en cours:

- LRSV (Eq C.Roux): Etude de mycelium en croissance
- Dynafor (M.Pichon): Localisation des pollens sur différents type de pollinisateurs



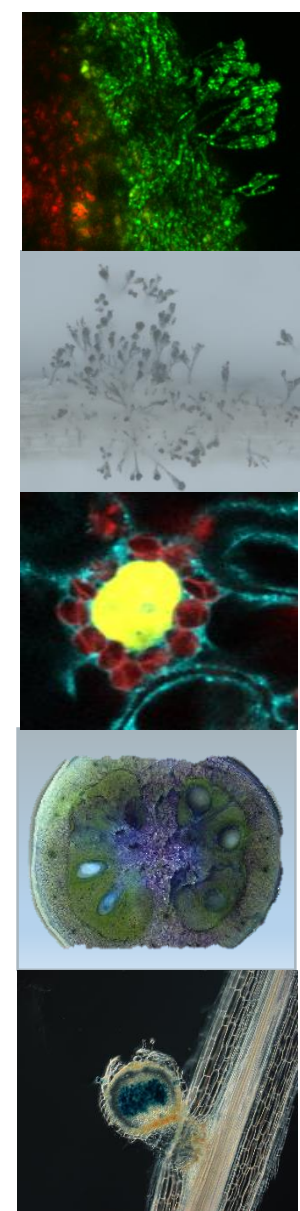
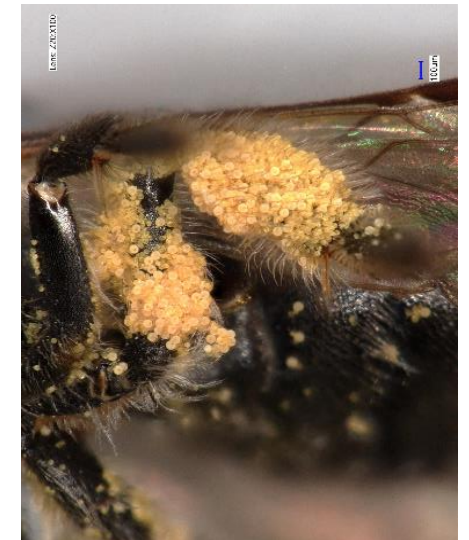
Microscope Keyence



C.Lefort - LRSV

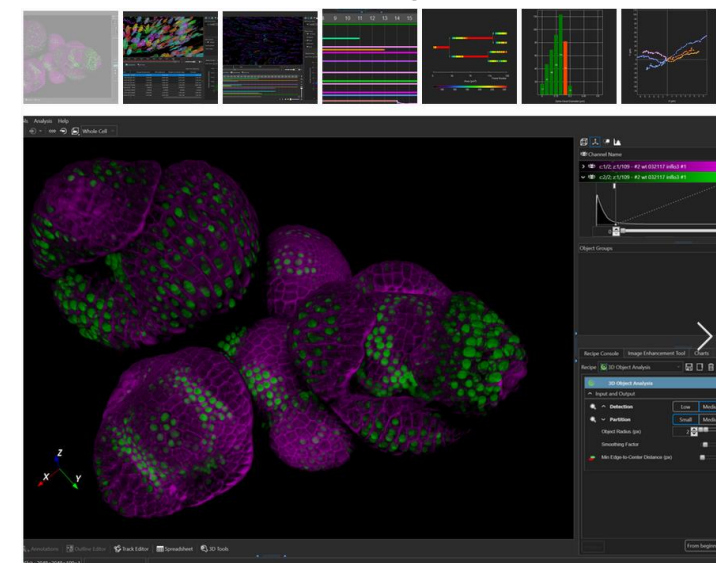
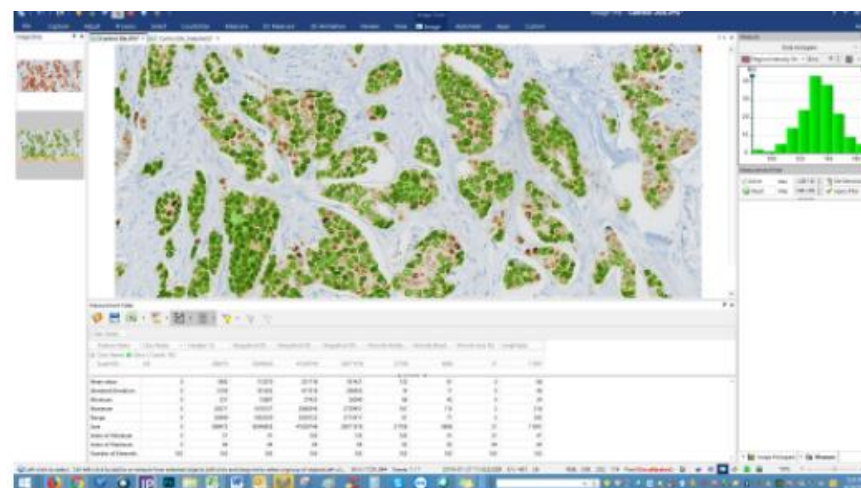
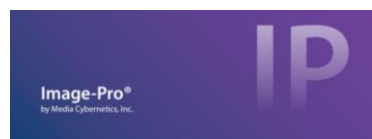


M.Pichon - Dynafor



1 poste d'analyse d'image

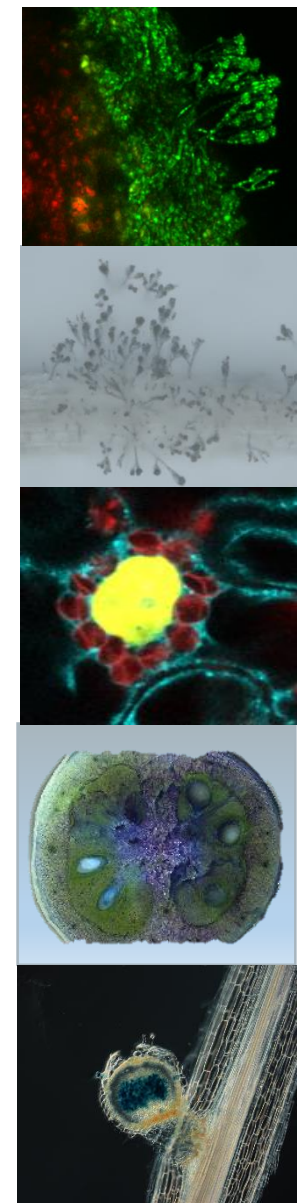
- **Licence supplémentaire Zen** (macroscopes Zeiss)
- **Logiciel Image Pro** (mesure 2D, focus étendu, alignement, superposition, analyse de couleurs HUE...)
- **Logiciel Aivia** (visualisation et mesure 3D, machine learning)



Et toujours:

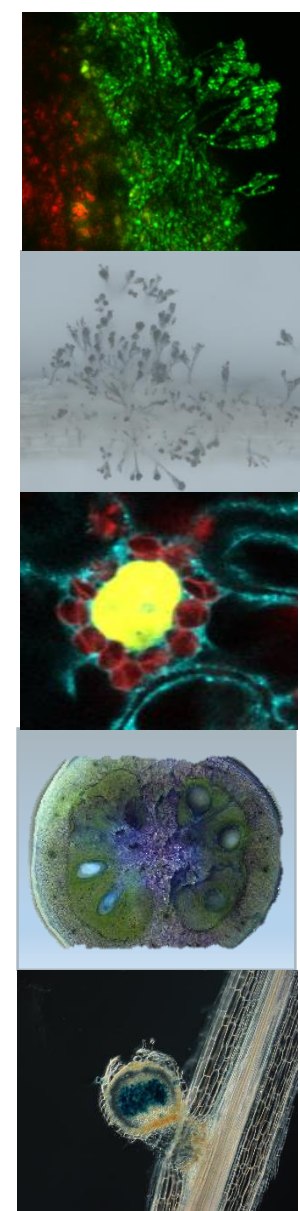
- **Image J**
- **LAS X 3D** (confocaux leica)

petites pièces : 1 équipement par pièce



3 ingénieurs à temps plein: Aurélie, Yves, Cécile

- Accueil de stagiaire/étudiant/CDD sur financement ANR avec co-encadrement PF imagerie pour la partie imagerie (bureau au niveau de la PF imagerie).
- Financement de M2 sur projet de développement (interne PF imagerie).
- Banque de colorant (WGA, dapi, hoechst, syto9, IP, mitotrackers, etc)



Objectif: obtenir des images contenant des informations rendant compte de la composition chimique *in situ* (*visualisation de différents lipides in planta*)

Plusieurs solutions:

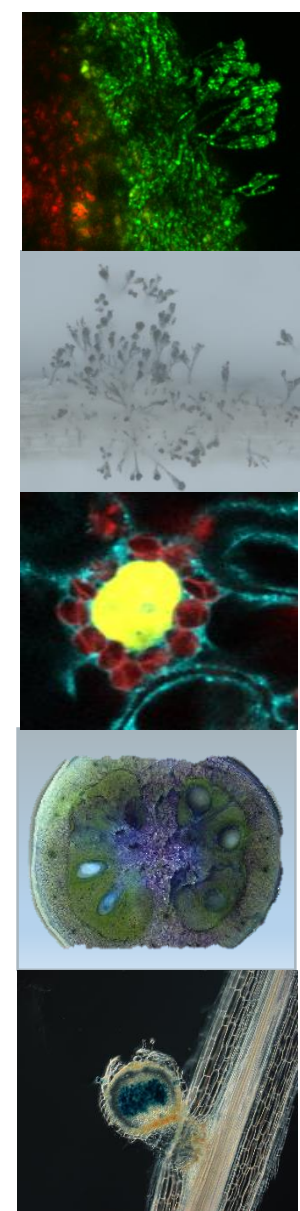
- *Imagerie-MS: couplage de la spectrometrie de masse avec une image de microscopie: résolution tissulaire (20-30µm). Equipement nouvellement disponible sur PF MétaToul (Toxalim)*
- *La microscopie Raman: cartographie chimique à l'échelle cellulaire (resolution confocale) de la composition chimique in situ.*



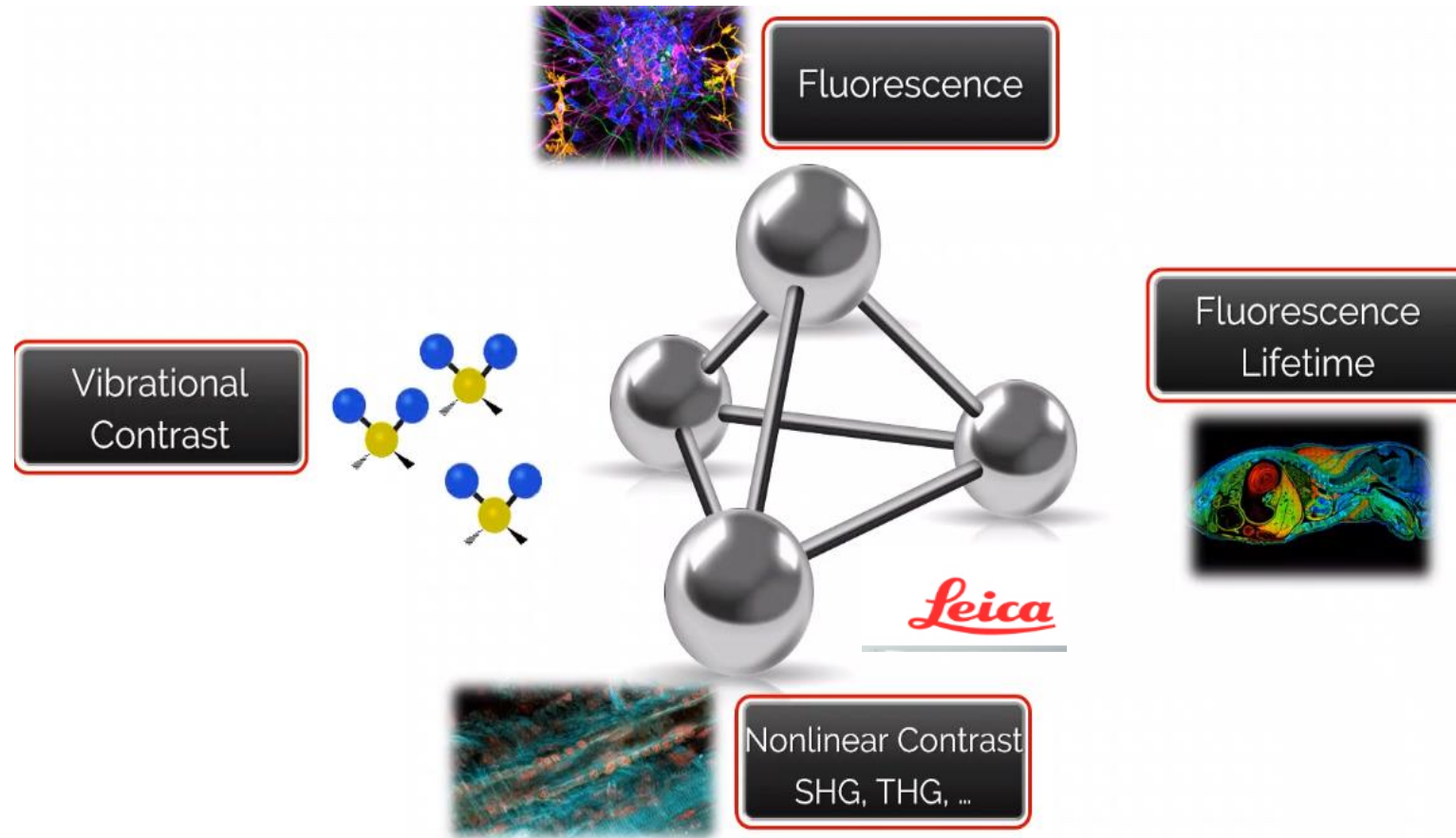
Microscopie CARS-SRS (Raman stimulé)



#8077T684

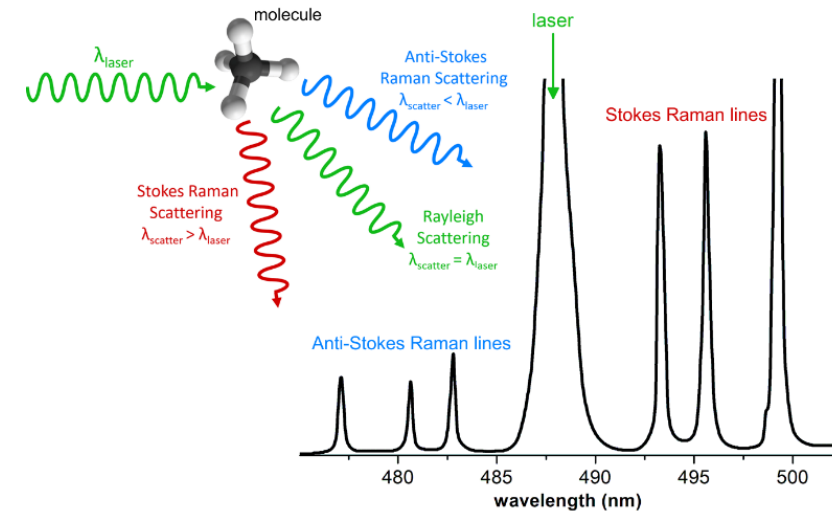
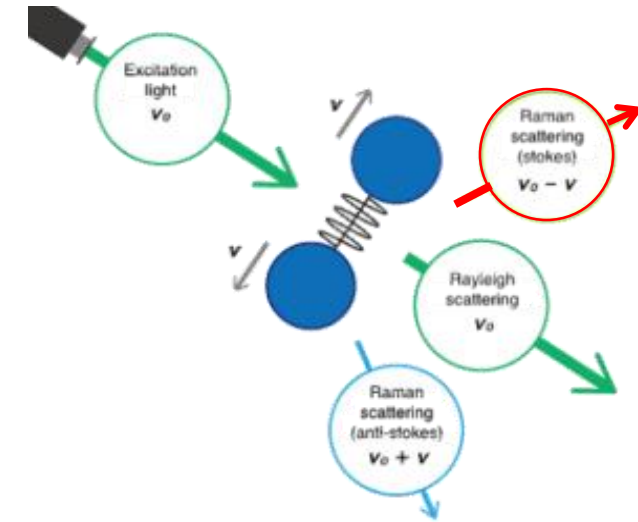
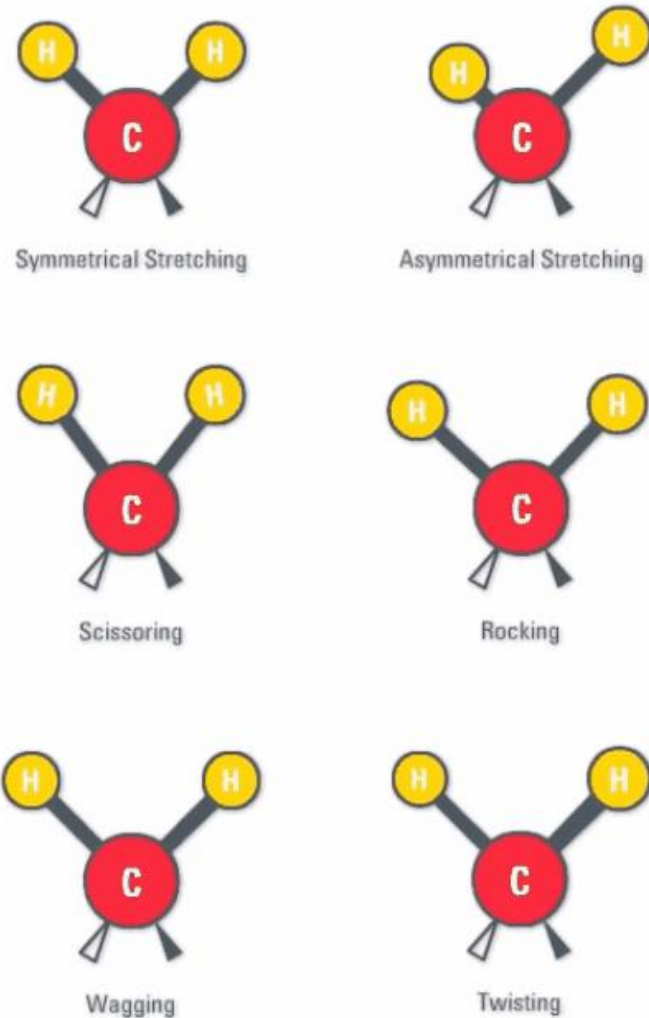


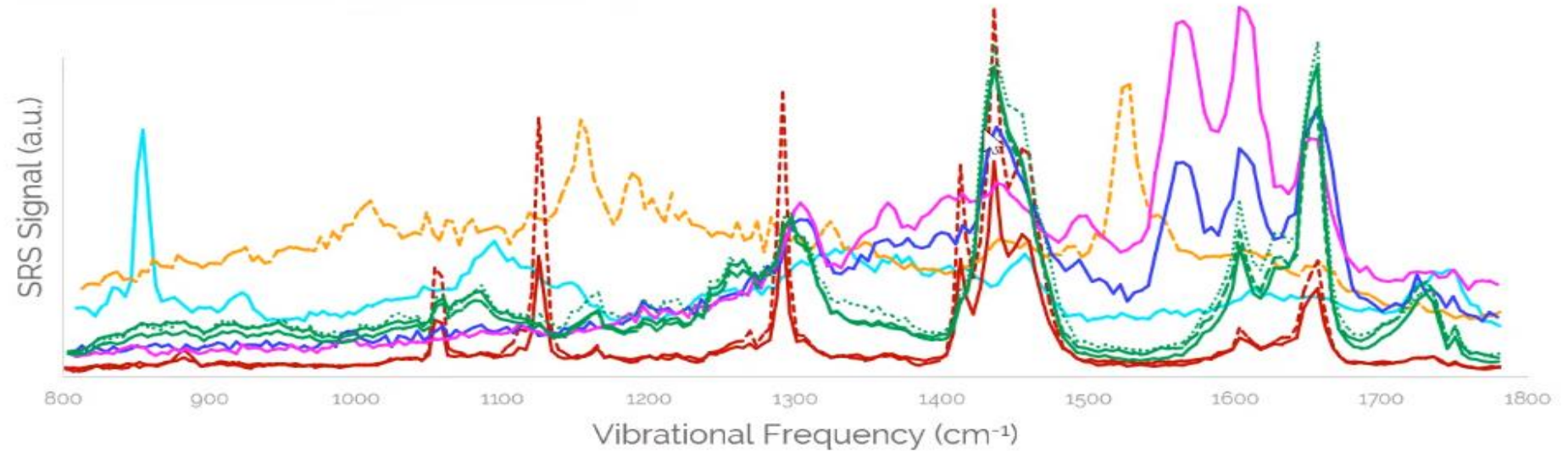
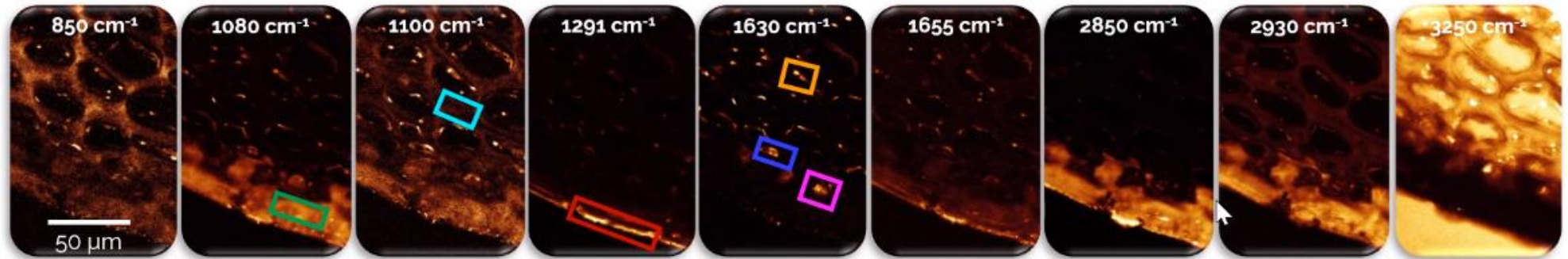
Les contrastes utilisés en microscopie photonique



© 2019 Leica Microsystems

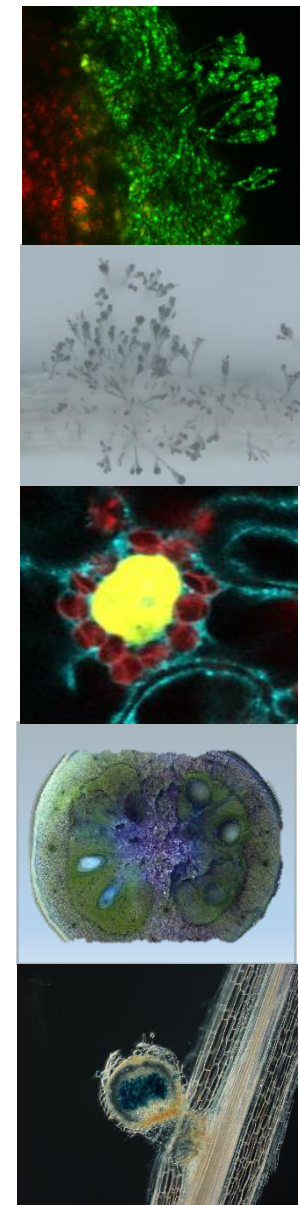
Energie vibrationnelle d'une molecule





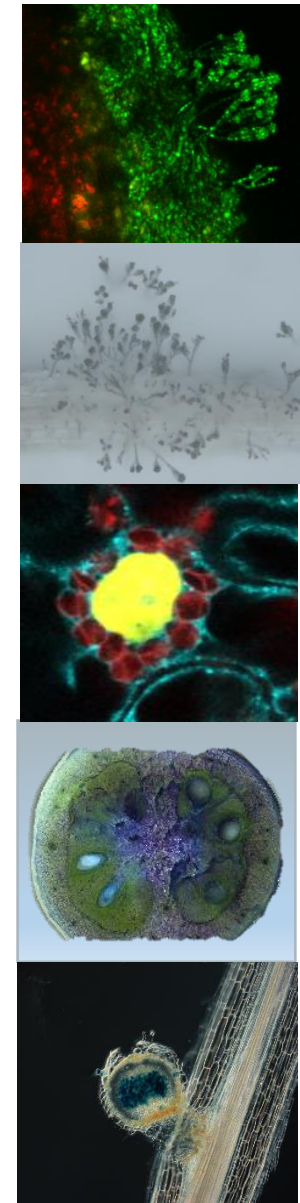
Spectre raman = signature vibrationnelle d'une molécule

Leica



Les avantages d'un microscope CARS-SRS

- Imagerie sans marquage permettant de visualiser des petits composés et d'avoir accès à la composition chimique
- Permet de cibler n'importe quelle liaison moléculaire présente dans l'échantillon (CH₂; CH₃; ...)
- Intrinsèquement confocal
- Signaux CARS et SRS (= raman stimulé) beaucoup plus intense que du raman spontané
 - Temps d'acquisition court
 - Mise en évidence de molécules faiblement concentrées
- Spécificité du signal SRS:
 - Permet de s'affranchir de l'autofluorescence (absence de phénomène résonnant)
 - Permet de mener des études quantitatives (signal SRS linéairement dépendant de la concentration du signal)



Les applications

Au niveau végétal:

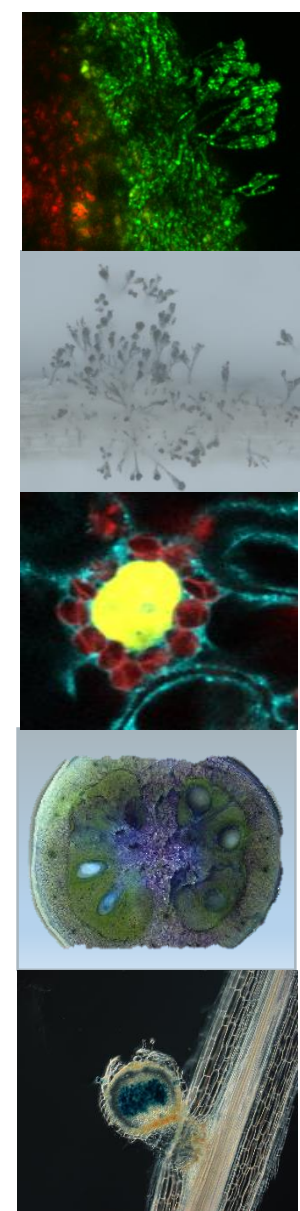
Les principales thématiques/besoins peuvent être groupés en trois items, ils portent sur des données de distribution *in vivo*:

- Des composés lipidiques de plantes (en interactions avec des microorganismes pathogènes ou symbiotiques, de stress environnementaux). Etude de transfert aux interfaces.
- De composés exogènes (éliciteurs, agents biologiques de traitements). Etude de transfert/absorption au niveau des épidermes.
- Des composés pariétaux à l'échelle cellulaire selon la nature des tissus (phénotypage de plantes modifiées, de mutants, en interactions avec des microorganismes pathogènes ou symbiotiques, de stress environnementaux).

Au niveau animal:

Les principales thématiques portent sur l'étude des lipides impliqués dans:

- Les pathologies cardio-métaboliques (mieux définir la physiologie et la biochimie des gouttelettes lipidiques (organe de stockage et de libération des lipides), notamment leur genèse, leur dynamique associée au contexte métabolique et à la spécificité tissulaire et cellulaire et la composition intralipidique,
- Les phénomènes de résistance aux anti-infectieux (modification de la distribution des lipides en réponse à l'exposition aux médicaments)
- Les perturbations métaboliques associées aux polluants (étude du suivi des changements dans le métabolisme des lipides)



Sur la PF TRI:

- Développement de la super-resolution
- Développement de la feuille de lumière (étude d'organoïde/échantillon épais vivant ou fixé)
- Développement de la cryomicroscopie en MET et en MEB (3D)
- Développement de la cytométrie-tri cellulaire multiparamétriques

A moyen-long terme sur la FRAIB

- Upgrade axiozoom 2 (système d'acquisition)
- Jouvence nanozoomer
- TIRF: Total Internal Reflection Fluorescence ?
- Autres?

Merci pour votre attention



Questions?