



## Avec HazeQC, gardez à l'œil la turbidité

Anton Paar France S.A.S. - **Tel** (Office): +33 1 69181188

**Fax:** +33 1 69070611 - info.fr@anton-paar.com

Anton Paar Switzerland AG - **Tel.:** +41 62 7451680

**Fax:** +41 62 7451681 - info.ch@anton-paar.com

www.anton-paar.com

**Les fabricants de boissons mesurent la turbidité pour garantir une qualité constante du produit et surveiller le processus de production. Le HazeQC offre une manière simple et directe de surveiller la turbidité. Équipé pour les fonctionnements à basse température n'exigeant qu'un petit volume de d'échantillon, le HazeQC se relie à une configuration modulaire et est prêt à être utilisé avec de nombreuses configurations.**

La turbidité dépend largement de la température. Ceci a notamment des effets sur le processus de production des bières et des spiritueux. À basse température, les composants de boissons tels que les protéines, les acides gras et leurs esters se précipitent partiellement en formant un « brouillard », car ils sont moins solubles à basse température. Ce phénomène est appelé « chill haze » (trouble dû au froid). Les brasseurs et distillateurs souhaitent éviter ce trouble parce que les consommateurs préfèrent une boisson réfrigérée claire – or c'est précisément à ce niveau qu'intervient le HazeQC.

En raison du « chill haze », certains échantillons tels que les spiritueux doivent être filtrés à froid et nécessitent donc une

cellule de mesure pouvant fonctionner à basse température. La mesure effectuée par la cellule du HazeQC est contrôlée au niveau de sa température au moyen d'un élément Peltier ; les analyses à des températures aussi basses que -5 °C ne représentent aucun problème. Ceci signifie également que l'échantillon n'est plus mesuré dans un bain d'eau, ce qui permet désormais de se dispenser de la maintenance et du nettoyage minutieux de celui-ci. La cellule de mesure en continu du HazeQC ne nécessite pas de procédure d'ajustement délicate à chaque nouvelle couleur ou dimension de bouteille. Fonctionnant avec un volume minimum d'échantillon de seulement 3 ml, l'échantillon peut être refroidi et mesuré en seulement 3 à 5 minutes. Ce qui se révèle particulièrement pratique lorsqu'il s'agit par exemple de déterminer la température optimale de filtration à froid. Ceci peut permettre d'obtenir des gains d'énergie considérables qui se traduisent à leur tour par une réduction des coûts de production.

La cellule de mesure en continu du HazeQC ne nécessite pas de procédure d'ajustement délicate à chaque nouvelle couleur ou dimension de bouteille. Fonctionnant avec un volume minimum d'échantillon de seulement 3 ml, l'échantillon peut être refroidi et mesuré en seulement 3 à 5 minutes. Ce qui se révèle particulièrement pratique lorsqu'il s'agit par exemple de déterminer la température optimale de filtration à froid. Ceci peut permettre d'obtenir des gains d'énergie considérables qui se traduisent à leur tour par une réduction des coûts de production.

Le HazeQC, qui utilise la méthode ratio éprouvée pour calculer le taux de turbidité à partir des signaux bruts à trois angles (transmission à 0°, 25° et 90° de lumière diffuse), répond ainsi à toutes les normes



courantes relatives à la turbidité des boissons. Il est également conforme aux normes MEBAK et EBC.

En fonction du type de boisson, le concept modulaire avancé d'Anton Paar combine des composants individuels pour réaliser des mesures multiples intelligentes de chaque échantillon de boisson, car plusieurs paramètres peuvent être obtenus en une seule opération. La combinaison standard pour la bière et les spiritueux se compose d'un alcoolmètre Alcolyzer, d'un densimètre DMA M et d'un HazeQC permettant la mesure simultanée de la densité, de l'extrait, du degré réel d'alcool et de la turbidité. Les extensions possibles comprennent un module de mesure de la couleur (430 nm), un passeur automatique d'échantillons et – dans le cas d'analyses d'échantillons de bières – d'un module de mesure du dioxyde de carbone CarboQC ME doté d'un système de remplissage adapté ainsi qu'un module optionnel de mesure de l'oxygène Option O<sub>2</sub>. Il existe même une combinaison

supplémentaire avec un module de mesure du pH ME et un passeur d'emballages Xsample 510 pour 18 bouteilles en PET, en verre ou pour cannettes. Si on laisse de côté l'Alcolyzer, ces combinaisons complètes conviennent aussi parfaitement aux boissons non alcoolisées.

De fait, les systèmes de mesure Anton Paar, à la pointe du progrès, comportent toutes les caractéristiques et tous les accessoires courant du XXI<sup>e</sup> siècle tels qu'Ethernet et un écran tactile externe de même que des accessoires USB comme une souris, un clavier et un lecteur de codes à barres.

La stabilité du HazeQC sur le long terme, sa rapidité d'analyse, ses faibles besoins en maintenance et sa manipulation conviviale ont fait de ce module de mesure un choix populaire dans les laboratoires de fabricants de boissons dans le monde entier.

## I-STP : Super-résolution et suivi dynamique de molécules uniques

par Xavier DARZACQ, Maxime DAHAN, Ignacio IZEDDIN, Vincent RECAMIER (École Normale Supérieure de Paris) et Daniel CIEPIELEWSKI (Nikon France, www.nikoninstruments.eu)

Au sein de la Fondation Pierre-Gilles de Gennes, les chercheurs Maxime DAHAN, Xavier DARZACQ et leurs équipes de l'École Normale Supérieure ont développé, en collaboration avec des ingénieurs de Nikon France, une nouvelle approche de microscopie optique à haute résolution. Le système, baptisé I-SPT (Intracellular Single Particle Tracking), permet au sein même de la cellule la détection de molécules uniques et l'étude précise des interactions moléculaires. Un outil d'imagerie ultrasensible qui devrait largement contribuer à notre compréhension de l'organisation du vivant !

### Le nouveau souffle de la microscopie optique ... au service de la biologie

La biologie consiste souvent en l'étude de réactions chimiques complexes entre les (bio)molécules qui se rencontrent et interagissent pour former un produit. Le manque d'outils pour étudier ces phénomènes *in situ*, au niveau moléculaire, représente un frein à la découverte et à l'innovation biomédicale. Depuis 2006, plusieurs équipes de recherche ont montré que le pointage de molécules uniques pouvait être une solution pour observer des structures microscopiques avec une résolution spatiale meilleure que celle théoriquement autorisée par les

propriétés de la lumière visible et de l'optique. Ces recherches ont insufflé un nouveau dynamisme dans le domaine de la microscopie optique et une multitude de nouvelles techniques ont émergé en quelques années. Une véritable course à « la super-résolution » !

C'est au cœur de cette nouvelle vague d'applications que Xavier DARZACQ (IBEN ENS, CNRS) et Maxime DAHAN (Laboratoire Kastler Brossel, département de Physique de l'ENS, CNRS), associés à une équipe d'ingénieurs de NIKON France, ont mis au point un microscope pour visualiser des molécules uniques dans des cellules vivantes: l'I-SPT.

### De nouvelles techniques de microscopie, des sondes biologiques performantes et un traitement d'images optimisé

L'I-SPT est basé sur l'utilisation de protéines fluorescentes photoactivables. Ces protéines fonctionnent comme des sources de lumière dont l'allumage et l'extinction peuvent être contrôlés ; au sein de la cellule, elles permettent de localiser des structures spécifiques et d'en suivre la dynamique spatiale et temporelle. Elles constituent l'une des avancées les plus importantes dans le domaine de l'imagerie en biologie et ont d'ailleurs valu l'attribution du Prix

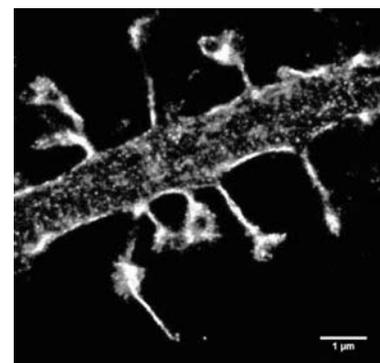
Nobel de Chimie 2008 à S. IMAMURA, M. CHALFIE et R. TSIEN (Tsiens 2005).

La détection optique en imagerie cellulaire a longtemps été limitée à la membrane de la cellule... celle de l'organelle ou de petits agrégats moléculaires. Toutefois, grâce à la combinaison de nouvelles techniques de microscopie, de sondes biologiques performantes et d'un traitement d'images largement optimisé par la puissance de calcul des processeurs actuels, les chercheurs ont montré qu'il était possible d'explorer les déplacements nanométriques des protéines dans le noyau d'une cellule, avec une précision dix fois supérieure à la limite théorique des microscopes optiques. Généralisant ainsi les techniques d'observation à l'échelle de la molécule unique, ils ouvrent la voie à des applications nouvelles et importantes en biologie : la microscopie haute résolution et le suivi dynamique de molécules individuelles.

### La technologie

#### → La microscopie haute-résolution

Depuis la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, nous savons que les lois de l'optique imposent une limite inférieure à la résolution. Cette limite *d*, appelée limite de la diffraction ou loi d'Abbe, est égale à :  $d = 0.6\lambda / ON$  ou  $\lambda$  est la longueur d'onde et ON est l'ouverture numérique du dispositif optique (figure 1). En biologie où est en général utilisée la lumière visible (400 <  $\lambda$  < 700 nm) et où les objectifs de microscopes ont une ON de l'ordre de 1.4, *d* est au mieux de l'ordre de 250 nm. Les dernières années ont été marquées par l'émergence de nouvelles méthodes optiques permettant de contourner cette limite. C'est le cas de la microscopie



structural parameters of rat hippocampal dendritic spines

STED inventée par Stefan HELL (Hell 2007) ou de l'illumination structurée développée par Mats GUSTAFSSON et John SEDAT (Gustafsson, Shao et al. 2008) grâce auxquelles il est possible d'obtenir des images d'échantillon biologique vivant avec une résolution entre 40 et 100 nm environ.

Un deuxième groupe de méthodes, introduit indépendamment en 2006 par les groupes américains d'Eric BETZIG, Xiaowei ZHUANG et Samuel HESS (revue Huang, Bates et al. 2009) utilisant la microscopie en champ large conventionnelle, se fonde sur le principe de localisation individuelle des molécules uniques comme détaillé (figure 1).

#### → La microscopie par photoactivation de molécules individuelles

Ordinairement, dans un microscope en champ large, nous collectons simultanément la fluorescence de toutes les molécules dans le champ. Du fait de la diffraction, ►►►



chaque molécule apparaît comme une tache d'extension  $d$ , ce qui détermine la résolution de l'image (figure 1A). Pour augmenter cette résolution, il est possible d'« allumer » seulement une petite fraction des molécules de l'échantillon, de façon à ce que leur distance relative soit supérieure à  $d$ . Dans ce cas, chaque tache dans l'image ne correspond qu'à une seule molécule, qui peut être localisée en déterminant le centre de la tache de diffraction (figure 1B). La précision  $\sigma$  de localisation de chaque molécule est alors bien meilleure que  $d$ . En fait,  $\sigma$  varie comme  $d/\sqrt{N}$  où  $N$  est le nombre de photons dans la tache de fluorescence et atteint des valeurs comprises entre 10 et 40 nm dans des conditions typiques d'imagerie d'une cellule.

Pour obtenir l'image complète de l'échantillon, il faut donc allumer quelques molécules, les localiser par analyse d'image puis les éteindre avant de recommencer avec une autre fraction des molécules. En répétant un grand nombre de fois cette séquence d'allumage-localisation-extinction, l'image est reconstruite molécule par molécule, avec une résolution déterminée par la précision de localisation  $\sigma$ . Ce type de microscopie, décrite parfois comme du pointillisme moléculaire par analogie avec la technique de peinture du même nom, est désignée dans la littérature sous les acronymes PALM (« PhotoActivated Localization Microscopy ») (Betzig, Patterson et al. 2006 ; Hess, Girirajan et al. 2006) ou STORM (« Stochastic Optical Reconstruction Microscopy ») (Rust, Bates et al. 2006).

L'élément clé de cette méthode repose sur les sondes fluorescentes qu'il est possible d'allumer puis d'éteindre à volonté. Plusieurs types de marqueurs le permettent aujourd'hui, que ce soit des protéines de fusion ou des colorants organiques (Fernandez-Suarez and Ting 2008). Le grand avantage des protéines est qu'elles peuvent être fusionnées à des gènes d'intérêt et génétiquement codés, permettant ainsi de regarder l'organisation de protéines spécifiques dans des cellules vivantes avec une résolution nanométrique (figure 1C).

### Exemples d'applications....

#### → Le suivi dynamique de la molécule unique

La méthode consiste à enregistrer dans une séquence d'images le signal d'une molécule individuelle marquée par une sonde fluorescente. Le système employé est un microscope inversé motorisé Nikon Eclipse TiE avec platine laser Nikon, bras TIRF motorisé, un système unique de maintien de la mise au point au cours du temps, lePFS (Perfect Focus System) et un objectif Plan Apo TIRF 100x NA 1.49,

Pour l'illumination, on utilise un Laser d'activation à 405 nm, et un laser d'Excitation 561 nm pour imager.

La détection est réalisée via une caméra intensifiée, l'EM-CCD Andor Ixon 897.

De même que dans la microscopie PALM ou STORM, la molécule est localisée dans chaque image avec une précision  $\sigma$  inférieure à la limite de diffraction. L'analyse de la trajectoire, reconstruite à partir des positions successives au cours de la séquence, donne accès à des paramètres importants contrôlant la dynamique spatiale, tels que la vitesse de transport ou le coefficient de diffusion. Jusqu'à aujourd'hui, l'imagerie au

niveau de la molécule unique était souvent limitée à des expériences en conditions de microscopie TIRF (total internal reflection fluorescence microscopy) qui ne permettent pas d'accéder au noyau.

Un effort important est actuellement mené pour accéder à la dynamique de molécules uniques dans des compartiments intracellulaires. Ces expériences, bien plus délicates que pour les protéines membranaires, suggèrent également une grande complexité des comportements moléculaires. Avec la nouvelle approche en champ large, en limitant le nombre de protéines photo-activées dans le noyau, l'émission de lumière en dehors du plan focal est diminuée ; le bruit de fond est ainsi significativement réduit, jusqu'au régime d'observation de la molécule unique.

#### → Des mesures sur la dynamique nucléaire du facteur de transcription pTEFb :

Un facteur de transcription est une protéine dont le rôle est de réguler l'expression génique en s'accrochant à des séquences cibles dans le génome. Lorsqu'ils sont observés individuellement, ces facteurs de transcription diffusent rapidement dans le noyau, si rapidement que le signal de fluorescence apparaît comme une tache floue à l'échelle du temps d'acquisition de l'image. Occasionnellement, le signal change et ressemble à la tache de diffraction bien définie d'une molécule quasi-immobile. Ces événements correspondent probablement à l'interaction transitoire du facteur de transcription avec la chromatine. En mesurant la durée de ces événements d'interaction, on peut donc déterminer l'affinité de la protéine pour des sites le long de l'ADN et ainsi étudier les paramètres qui contrôlent la cinétique de la régulation de l'expression génique.

#### De nouveaux champs d'investigations dans le domaine de la biologie moléculaire et cellulaire

Soulignons pour conclure que les deux applications décrites en gain de résolution et suivi dynamique de molécules ne sont pas exclusives. Elles rendent possible l'imagerie haute résolution de structures cellulaires pour laquelle la dynamique des molécules est résolue. Avec ces nouvelles applications, la microscopie photonique, qui nous a permis de découvrir l'organisation de la cellule, devient aussi une méthode pour la visualisation des interactions entre molécules, ce qui en fait un outil d'étude de la « biochimie cellulaire ».

Ces travaux ouvrent la voie à de nouveaux champs d'investigations dans le domaine de la biologie moléculaire et cellulaire, tant au plan fondamental que pour l'étude de certains mécanismes pathologiques : il devient possible de réaliser des études biochimiques *in situ* en mesurant des interactions entre molécules biologiques directement dans leur environnement cellulaire. Des développements futurs de ces technologies d'imagerie permettront de mesurer plus précisément l'action d'agents pharmacologiques sur des cibles moléculaires. Ce dernier développement ouvre la porte à l'identification de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique...

## HAVER & BOECKER



DIE DRAHTWEBER



### ANALYSE GRANULOMÉTRIQUE INTELLIGENTE. LA RÉFÉRENCE EN MATIÈRE DE PRÉCISION.



- Tamis de contrôle HAVER pour garantir des résultats reproductibles.
- Tamiseuses de laboratoire avec mouvement de tamisage à trois dimensions et réglage entièrement électronique.
- Tamiseuses de laboratoire originale TYLER RO-TAP.
- Diviseur d'échantillon à rotation HAVER RPT pour la division représentative des produits en vrac sec ou des suspensions de particules en relation 1:8, 1:10 ou 1:30.
- Analyse photo-optique de particules pour champs de mesure de 0,010 à 400 mm.



HAVER & BOECKER  
Ennigerloher Strasse 64  
59302 OELDE  
ALLEMAGNE  
Tél.: +49-25 22-300  
Fax: +49-25 22-30 404  
E-Mail:  
pa@haverboecker.com

France:  
HAVER & BOECKER  
7 rue Sainte Catherine  
F-24100 BERGERAC  
Tél.: 05.53.24.93.13  
Fax: 05.53.24.95.99  
E-Mail:  
haver.toiles@wanadoo.fr

www.les-tissus-metalliques.com/fr/pa