



Gros plan sur... ImagoSeine, la plate-forme Imagerie de l'Institut Jacques Monod

A l'occasion des 50 ans de l'Institut Jacques-Monod (IJM), son directeur – M. Giuseppe BALDACCINI – et ses chercheurs nous ont ouvert les portes de leur laboratoire. Un retour sur un demi-siècle d'histoire et un voyage au cœur de la biologie moderne que nous avons initiés le mois dernier dans le cadre de notre article « 50 ans de recherche au cœur des mécanismes de la vie ». Nous vous proposons aujourd'hui de poursuivre la visite et découvrir l'une des six plates-formes technologiques de l'IJM : ImagoSeine.

Une quadruple vocation de recherche, de service, d'expertise et de transfert de compétences

L'Institut Jacques Monod, unité mixte de recherche du CNRS et de l'Université Paris Diderot, s'impose comme l'un des principaux pôles de recherche fondamentale en biologie de la région parisienne. Mondialement reconnues, ses équipes sont installées sur le campus de l'université Paris Diderot (Paris Rive Gauche) où elles bénéficient de plus de 8000 m² de laboratoires de toute dernière génération.

Ainsi en parallèle de son positionnement historique, et toujours fortement ancré, sur la recherche fondamentale, l'IJM a développé une importante activité de services, fondée sur l'expertise de ses ingénieurs et la richesse de son parc instrumental.

Dès la fin des années 90, plusieurs plates-formes technologiques de pointe ont été constituées au sein de l'Institut Jacques Monod à partir de ses différentes unités techniques. Animées d'une quadruple vocation de recherche, de service, d'expertise et de transfert de compétences, elles accompagnent le développement des études réalisées au sein même de l'IJM et s'ouvrent aux autres laboratoires académiques et industriels.

Les plates-formes technologiques de l'Institut Jacques Monod sont aujourd'hui au nombre de six : Protéomique, Paléogénomique et taphonomie moléculaire, Transgène et analyse quantitative des produits de transcription du génome, Bioinformatique, Animalerie, et Imagerie. C'est à cette dernière tout particulièrement que nous nous intéressons aujourd'hui. Baptisée ImagoSeine, la plate-forme Imagerie de l'Institut Jacques Monod réunit de remarquables ressources humaines et matérielles, au service des chercheurs de l'Institut Jacques Monod, mais aussi de l'ensemble de la communauté scientifique nationale et internationale, publique et privée...

Cytométrie en flux, microscopie électronique et microscopie photonique

ImagoSeine est la plate-forme de service et de R&D en imagerie de l'Institut Jacques Monod. Elle est pilotée par une équipe de dix ingénieurs dont les spécialisations complémentaires en biologie, physique, et informatique, lui confèrent une réelle valeur ajoutée à l'interface des techniques d'imagerie et de la biologie. En termes d'équipements, la cytométrie en flux, la microscopie électronique et la microscopie photonique s'imposent au cœur des ressources de la plate-forme, riche de nombreux instruments de toute dernière génération.

→ **La cytométrie en flux**, introduite au sein d'ImagoSeine depuis plus de vingt ans, permet l'analyse qualitative et quantitative multiparamétriques et multi-

couleurs, ainsi que le tri de cellules à haut débit, basés sur la taille, la granulosité, et l'intensité de fluorescence d'éléments en suspension. Ces éléments peuvent être des cellules, des bactéries, des levures, mais aussi des constituants subcellulaires : noyaux, mitochondries, chloroplastes, chromosomes...

Les principaux domaines d'applications portent sur l'analyse des constituants cellulaires - ADN, ARN, protéines, expression d'antigènes membranaires et/ou intracellulaires – et l'analyse de fonctions cellulaires telles que l'activation (modification du pH...), la production de cytokines, la variation du potentiel membranaire ou mitochondrial, l'apoptose (activation des caspases, Annexin V/Iodure de propidium, TUNEL...) ou encore les activités enzymatiques. Autres exemples d'études conduites : la mise en évidence de cellules transfectées, le tri des cellules en conditions stériles ou non, et l'analyse morphométrique ou de localisation : mesure taille/forme des événements, co-localisation, translocation, internalisation, interaction cellule-cellule, autophagie, comptage de spots...

Trois équipements de cytométrie en flux sont disponibles au sein d'ImagoSeine : un analyseur CyanADP Cytomation/Beckman-Coulter, équipé de trois lasers (405 nm, 488 nm et 635 nm), un analyseur/trieur Influx 500 Cytospeia/BD-Biosciences, équipé de cinq lasers (355 nm, 405 nm, 488 nm, 561 nm et 635 nm) et un imageur en flux ImageStreamX Amnis/Millipore/Proteigene, acquis en 2011, équipé de quatre lasers (405 nm, 488 nm, 561 nm et 658 nm).

→ **La microscopie électronique** permet l'analyse ultrastructurale de la cellule et de ses composants. « La résolution en microscopie électronique permet d'atteindre l'échelle atomique, mais en biologie où nous travaillons à l'échelle moléculaire, nous cherchons à augmenter davantage le contraste que la résolution », souligne M. Jean-Marc VERBAVATZ, coordinateur général d'ImagoSeine. « Une part importante du travail repose sur la préparation d'échantillons à température ambiante ou à basse température : coloration, inclusion dans résine, coupe fine sur ultra microtome ou ultra cryomicrotome... »

Ainsi la plate-forme ImagoSeine de l'Institut Jacques Monod met à profit l'expertise de son équipe, ses méthodes et équipements pour l'analyse morphologique ou la localisation moléculaire par immunomarquage sur des échantillons biologiques et l'étude de particules isolées. La plate-forme est notamment dotée de deux microscopes électroniques en transmission, des équipements de préparation d'échantillons à froid (*high pressure freezing*, automates de cryosubstitution), des ultramicrotomes et ultra-cryomicrotome pour l'obtention des coupes. Elle dispose également de petits matériels permettant le traitement des grilles de microscopie et les colorations sur grilles.

→ **La microscopie photonique** permet la visualisation et l'analyse des structures et des processus dynamiques au niveau tissulaire et cellulaire (procaryotes et eucaryotes). La plate-forme ImagoSeine propose des expertises et des équipements innovants, permettant des observations de la molécule unique jusqu'à l'échelle d'un organisme. Toutes les applications de microscopie photonique peuvent être envisagées au sein d'ImagoSeine car les systèmes de la plate-forme se prêtent à un large spectre de fluorochromes, et de résolution résolutions spatiales et temporelles.



Réalisation de coupes ultrafines (70 nm d'épaisseur) pour la microscopie électronique à l'ultramicrotome



Observation au microscope électronique à transmission

Ces prestations profitent d'un large panel d'équipements, dont trois microscopes confocaux (ZEISS LSM710, ZEISS LSM780 et confocal à balayage LEICA TCS SP5 AOBs), deux microscopes Spinning disk, haute résolution (CSU10) et haute sensibilité (CSU22), un microscope Spinning disk CSU-W1, trois microscopes plein champ (plein champ ZEISS, plein champ LEICA et stéréo-microscope ZEISS Lumar), un microscope super résolution (ZEISS Elyra), un système de spectroscopie de fluorescence (Microtime PICOQUANT), un microscope 2-Photon (LAVISION BIOTEC), un microscope à feuille de lumière. Trois stations de traitement et d'analyse d'images complètent ce parc instrumental.

De la molécule au tissu entier : des prestations de service et de R&D de haut niveau

De la molécule au tissu entier, la plate-forme ImagoSeine propose et développe ainsi des prestations de haut niveau permettant la visualisation et l'analyse de la structure, de la dynamique, des interactions et des fonctions des échantillons biologiques.

Ses ingénieurs hautement spécialisés interviennent au plus près des chercheurs pour les orienter vers l'équipement le plus adapté à leur projet et assurer un suivi personnalisé. Etudes de faisabilité, sessions avec ou sans assistance, ou projets collaboratifs... : selon le type de prestations choisi, ils accompagnent les utilisateurs dans la conception des outils (biologie moléculaire, étiquetage des protéines, choix des marquages et des fluorophores, protocoles d'analyse...) et la mise en place de l'expérience (définition des contrôles, des modes opératoires, des précautions à prendre vis-à-vis des artefacts potentiels) jusqu'à l'analyse des données obtenues et l'interprétation des résultats.

Sur certains instruments, dans le cas de projets de longue durée n'impliquant pas de développement particulier, des formations sont proposées aux utilisateurs.

Ces formations individuelles comprennent des parties théorique et pratique sur le système utilisé et les rappels de conditions d'utilisation des systèmes (hygiène et sécurité). Les utilisateurs sont ensuite autonomes. D'autres systèmes tels que certains équipements de cytométrie en flux, sont exclusivement pilotés par le personnel expert de la plate-forme.

Entre autres missions, la plate-forme contribue également à la diffusion des résultats et participe à différents ateliers et formations dans le cadre de plusieurs cursus (CNRS, INSERM, Université). Elle est par ailleurs engagée dans une démarche d'amélioration continue de la qualité de ses prestations, par la mise en œuvre d'un système de management de la qualité, certifié ISO9000-NFX50-900 depuis novembre 2015.

La plate-forme ImagoSeine est membre de l'infrastructure nationale des plates-formes d'imagerie France-Biolmaging et du réseau Euro-Biolmaging. Elle bénéficie du soutien de différents organismes (CNRS, Inserm, Université Paris-Diderot) et de différentes agences ou fondations (IBISA, Agence Nationale de la recherche, FRM, ARC). Rappelons en outre que l'Institut Jacques Monod, pôle de recherche fondamentale d'excellence en biologie, regroupe plus de 330 personnes de 28 nationalités différentes, dans une trentaine d'équipes. Ses travaux s'organisent autour de trois thèmes majeurs [Dynamique du génome et des chromosomes - Dynamique cellulaire et signalisation intracellulaire - Développement embryonnaire et évolution des espèces] et deux axes transversaux [Biologie quantitative et modélisation - Pathologies moléculaires et cellulaires]. Les recherches interdisciplinaires, à l'interface de la physique, des mathématiques, de la chimie et de la médecine, y sont vivement encouragées, de même que les dépôts de brevets, de plus en plus nombreux.

Pour en savoir plus :
www.ijm.fr/