



Bienvenue aux JST !

Après la situation inédite de l'année 2020 qui n'a pas permis aux membres du réseau de microscopie INRAE de se retrouver lors de journées technologiques et scientifiques, nous sommes cette année heureux de retrouver les membres du réseau en présentiel.

Ces journées, qui fêteront leur 10^{ème} manifestation, représentent un moment privilégié de rencontres entre les différents acteurs dans le domaine de la microscopie et de l'imagerie. Elles constituent un foyer d'échanges propice au développement des compétences et de collaborations, que nous souhaitons préserver.

Placées sous l'égide de l'imagerie multimodale corrélative, les journées seront l'occasion d'évoquer les combinaisons de plusieurs modalités de microscopie et d'imagerie dans leurs plus récentes évolutions pour explorer des cellules, des organoïdes, des tissus ou des organismes animaux ou végétaux, voire des œuvres d'art. Un accent sera également porté sur l'analyse et le traitement des images en invitant au passage l'intelligence artificielle. Des tables rondes, des ateliers et une session posters viendront compléter le programme afin de préserver l'esprit d'échanges.

Cette année, une nouveauté sera mise en place puisque les posters pourront faire l'objet d'une rapide présentation orale au cours d'une session « pitch » visant à piquer la curiosité des auditeurs et les inviter à venir discuter autour du poster.

Les participants pourront également découvrir les nouveautés technologiques présentées par les fournisseurs présents à ces journées. Nous remercions ces derniers pour leur fidèle soutien et pour l'intérêt qu'ils accordent aux JST.

Ces journées ne pourraient pas se dérouler sans le soutien des partenaires institutionnels régionaux et nationaux. Nous tenons à remercier les départements INRAE PHASE, SA, MICA, ALIMH, ECODIV, BAP et SPE, la Formation Permanente Nationale, la CNOC, la Société Française de Microscopie et plus localement le centre INRAE Val de Loire, la Région Centre Val de Loire, l'Université de Tours et la SFR Neuroimagerie pour leur soutien à la discipline et leur confiance. Nous remercions également le comité de pilotage, et plus particulièrement Isabelle Bornard, Thierry Astruc et Thierry Meylheuc pour leur accompagnement.

Nous vous souhaitons un très bon séjour et nous comptons sur vous pour faire de ces JST un grand moment d'échanges sur le plan scientifique et humain et en revenir avec de beaux projets.

Le Comité d'organisation

L'accueil se fera dans le respect des mesures sanitaires conformes aux mesures gouvernementales et le pass sanitaire sera exigé.



Photo Thibaut Laboute

ORGANISATION

Comité local

BLACHE Marie-Claire

CHAILLOU Elodie

CUELLO Clément

DRUART Xavier

FLEUROT Renaud

LANGEVIN Christelle

LAURANS Françoise

MEURISSE Maryse

RAYNAL Pierre-Ivan

REYNAUD Karine

ROSSIGNOL Christelle

TARAGNAT Catherine

TILLET Yves



SOMMAIRE

Sponsors	page 5
Programme	page 6
Communications orales	page 11
Posters	page 37
Liste des participants	page 49



SPONSORS



Mercredi 24 Novembre 2021

12h00 - 13h30 *Accueil des participants - remise des badges - repas froids*

Introduction

- 13h30 - 13h45 Introduction aux 10èmes JST du RµI – **Catherine Taragnat et Xavier Druart**
13h45 - 14h00 Présentation du Centre INRAE Val de Loire – **Marc Guérin**
14h00 - 14h30 Présentation des plateformes technologiques
INRAE : PIC – **Xavier Cayla**
INRAE : PIXANIM – **Xavier Druart**
Université de Tours : Plateforme Microscopie Electronique – **Pierre-Yvan Raynal**

**Session – Imagerie Multimodale Corrélative pour l'exploration de structures
(Modérateurs : Elodie Chaillou et Camille Rivard)**

- 14h30 - 14h40 Introduction sur les enjeux de l'imagerie multimodale corrélative - **Elodie Chaillou** (INRAE Nouzilly)
14h40 - 15h00 Etude par des approches d'imagerie multimodale en lumière synchrotron de l'impact de la fibrillation de la protéine PB1-F2 des virus influenza A au cours de l'infection chez la souris - **Olivier Leymarie** (Synchrotron Soleil, Paris-Saclay)
15h00 - 15h20 De la caractérisation microscopique des composants des sols à l'étude dynamique de leur fonctionnement - **Marine Lacoste** (INRAE Orléans)
15h20 - 15h40 Développement d'une méthode corrélative MEB/MET pour l'analyse des structures biologiques - **Rustem Uzbekov** (Université de Tours)
15h40 - 16h00 Echanges sur la multimodalité corrélative et l'exploration cellulaire

16h00 - 16h30 PAUSE - Session posters – Exposants

**Session – Imagerie Multimodale Corrélative pour l'analyse moléculaire
(Modérateurs : Françoise Laurans et Thierry Astruc)**

- 16h30 - 16h50 Imagerie moléculaire par microspectroscopie confocale Raman: de la cellule au tissu - **Igor Chourpa** (Université de Tours)
16h50 - 17h10 Microphénotypage par microscopie ATR-FTIR et Microtranscriptomique après microdissection laser de fibres de bois de peuplier - **Clément Cuello et Françoise Laurans** (INRAE Orléans)
17h10 - 17h30 Couplage des imageries confocale-IRM-spectrométrie de masse pour l'étude d'un organe reproducteur - **Xavier Druart** (INRAE Tours)
17h30 - 18h15 Table ronde, animée par **Elodie Chaillou**
18h15 - 18h30 Session Présentation Pitch Posters (1'30 / poster)
18h30 - 20h00 Session posters – Exposants

20h00 - 22h00 Cocktail dinatoire



Jeudi 25 Novembre 2021**Session – Transparisation, organoïdes et exploration des tissus**
(Modératrices : Christelle Rossignol et Laurence Dubreil)

- 09h00 - 09h10 Présentation ultramicroscope - **Christian Feuillet** (Société Mylteni)
- 09h10 - 09h20 Présentation du groupe transparisation du RTMFM - **Laurence Dubreil** (INRAE Nantes) **et Geneviève Conejero** (INRAE Montpellier)
- 09h20 - 09h50 Combinaison de plusieurs méthodes d'imagerie pour déchiffrer les interactions hôte - pathogène à différentes échelles - **Christelle Langevin** (INRAE Jouy en Josas)
- 09h50 - 10h10 Les organoïdes, de nouveaux modèles de culture *in vitro* pour une meilleure compréhension du vivant - **Sonia Lamandé et Karine Reynaud** (INRAE Nouzilly)
- 10h10 - 10h30 La transparisation dans toute sa splendeur. Quoi, pourquoi, comment et encore... - **Katia Belcram** (INRAE Versailles-Grignon)

10h30 - 11h00 PAUSE - Session posters – Exposants

- 11h00 - 11h20 La microscopie d'expansion, une alternative abordable aux techniques classiques de super résolution - **Monica Fernandez-Monreal** (Université Bordeaux)
- 11h20 - 11h50 Table ronde : Transparisation et Immunohistochimie : trouver sa solution, animée par **Maryse Meurisse**
- 11h50 - 12h10 Concevoir rapidement une figure digne d'une publication avec EZFig – **Benoit Aigouy** (CNRS Marseille)
- 12h10 - 12h40 Assemblée générale du Réseau RµI

12h45 - 14h00 Déjeuner sur place (buffet)

14h00 : **départ en bus vers les ateliers**

14h30 - 17h30 Ateliers (**Nouzilly**: PIXANIM, PIC ou **Tours**: Bretonneau)

.....

Nouzilly :

Atelier PIC (Plateforme Imagerie Cellulaire, Nouzilly) : Imagerie cellulaire avec 3 activités (groupes tournants)

- 1/ Acquisition d'échantillons transparisés au Microscope Confocal inversé (avantages et Inconvénients) (**Maryse Meurisse**)
- 2/ Acquisition de lames Virtuelles avec un scanner de lames (quand Google Maps s'invite dans la science !) (**Renaud Fleurot**)
- 3/ Analyse des lames virtuelles avec QuPath (du traitement d'images classique au Deep Learning...) (**Marie-Claire Blache**)

Atelier Pixanim (Plateforme Imagerie in et ex vivo, Nouzilly): Imagerie in et ex vivo avec 4 activités (groupes tournants)

- 1/ IRM
 - 2/ CT-Scan
 - 3/ Imagerie moléculaire par spectrométrie de masse
 - 4/ Cell Visio
- .

Tours :

Atelier Plateforme de Microscopie Electronique (Université Tours): atelier avec 4 activités (groupes tournants)

- 1/ Microscopie à balayage
- 2/ Microscopie à transmission
- 3/ Microscopie confocale
- 4/ Préparation d'échantillons en ME/cryo-méthodes

Retour Tours vers 18H

.....

18h00 – 20h00 **Conférence au Centre de Création Contemporaine Olivier Debré, Tours**

Apport de la microscopie électronique en transmission à l'étude des matériaux du patrimoine culturel - **Philippe Sciau** (Centre d'Elaboration de Matériaux et d'Etudes Structurales, Toulouse)

Visites des expositions temporaires

20h30 - 23h30 Dîner de Gala au restaurant Babette, Tours



Vendredi 26 Novembre 2021**Session – Analyse d'image et traitement du signal**
(Modérateurs : Benoit Piégu et Marie-Claire Blache)

09h00 - 09h40 Restitution ateliers

09h40 - 10h00 Analyse d'images à l'aide de graphes et de réseaux profonds - **Jean-Yves Ramel**
(LIFAT Tours)

10h00 - 10h20 Traitement d'images 4D (espace + temps) pour caractérisation quantitative de la croissance et de la déconstruction des plantes - **Yassin Refahi** (INRAE Reims)

10h20 - 10h50 PAUSE - Session posters – Exposants

10h50 - 11h10 Toward predicting gene expression and metabolism from label free spectral imaging - **Arno Germond** (INRAE Theix, RIKEN Japon)

11h10 – 11h30 Gestion, sauvegarde, archivage des données - **Esther Dzale-Yeumo** (INRAE Paris)

11h30 - 12h00 Table ronde : Deep learning pour le microscopiste : que peut-on faire en tant que non spécialistes ?, animée par **Marie-Claire Blache**

12h00 – 12h30 Conclusion de la journée et remise des prix (communication orale et poster)

12h30 Clôture des journées et remise de repas froids aux participants



Mercredi 24 Novembre 2021



Etude par des approches d'imagerie multimodale en lumière synchrotron de l'impact de la fibrillation de la protéine PB1-F2 des virus influenza A au cours de l'infection chez la souris

Olivier Leymarie^{*a}, Christophe Chevalier^b, Laura Sedano^b, Bruno Da Costa^b, Karim Benihoud^c, Charles-Adrien Richard^b, Pauline Maisonnasse^b, Matthieu Réfregiers^a, Frédéric Jamme^a, Ronan Le Goffic^b

^a Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, 91190 Saint-Aubin, Gif-sur Yvette, France

^b VIM, INRA, Université Paris-Saclay, 78350, Jouy-en-Josas

^c Laboratoire de vectorologie et thérapeutiques anticancéreuses, UMR 8203, CNRS, Univ. Paris-Sud, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Villejuif

* olivier.leymarie@synchrotron-soleil.fr

Les virus influenza A (VIA) sont les agents étiologiques de la grippe. Ils infectent un très large spectre d'hôte : espèces aviaires, mammifères terrestres et marins. Bien que les différents sous-types viraux présentent une spécificité d'hôte importante, les VIA ont la capacité de franchir les « barrières d'espèce » avec une fréquence élevée. Depuis 1997, les virus influenza A aviaires hautement pathogènes de sous-type H5N1, qui jusqu'alors étaient restreints aux espèces aviaires, se transmettent occasionnellement à l'homme avec un taux de mortalité élevée (60%).

La protéine non-structurale PB1-F2 des VIA est un facteur de virulence qui contribue à l'augmentation de la pathogénicité virale chez l'hôte mammifère en exacerbant l'inflammation¹. PB1-F2 est une protéine intrinsèquement désordonnée qui peut former des fibres de type amyloïde². Cependant, les relations liant l'activité fonctionnelle de PB1-F2 et les structures tridimensionnelles adoptées par cette protéine restent à élucider.

Pour tenter de répondre à cette question, nous avons eu recours à une approche d'imagerie multimodale s'appuyant, pour partie, sur le rayonnement synchrotron. Ce dernier a notamment pour avantage d'avoir une brillance élevée, offrant une nette amélioration du rapport signal-sur-bruit par rapport à une source de lumière classique et permettant d'atteindre une grande qualité spectrale et une très bonne résolution spatiale. En tirant bénéfice de la microspectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et de la microscopie dans l'ultraviolet lointain proposées par le synchrotron SOLEIL^{3,4}, nous avons pu évaluer la présence de fibres amyloïdes de PB1-F2 dans les poumons de souris infectées par le VIA. Parallèlement, afin d'étudier la corrélation entre la structure de PB1-F2 et la réponse inflammatoire dans le modèle murin, nous avons suivi *in vivo* par imagerie intra-vitale l'activité du régulateur transcriptionnel clé de l'inflammation : NF-κB. L'instillation intranasale de formes monomériques, pré-fibrillées ou tronquées de PB1-F2 recombinantes chez des souris transgéniques exprimant un rapporteur luciférase sous le contrôle du promoteur NF-κB montre clairement l'effet pro-inflammatoire des fibres de PB1-F2. A contrario, la partie N-terminale de PB1-F2, incapable de fibriller, ne provoque aucune inflammation. Ces données, couplées à l'utilisation de la pléthysmographie sur « corps entier », ont permis de quantifier les effets des différentes formes de PB1-F2 sur les paramètres respiratoires des souris. Ainsi, l'inflammation et la détresse respiratoire induites par PB1-F2 sont étroitement corrélées à la séquence et au statut d'oligomérisation de la protéine.

1. Cheung, P. H., Lee, T. T., Chan, C. & Jin, D. J. *Leukoc. Biol.* JLB.4MR0320-206R (2020)
2. Chevalier, C. *et al. J. Biol. Chem.* **285**, 13233–43 (2010).
3. Jamme, F. *et al. Microsc. Microanal.* **16**, 507–514 (2010).
4. Quaroni, L. & Zlateva, T. *Analyst* **136**, 3219–3232 (2011).



Olivier Leymarie a obtenu un doctorat de virologie en 2013 à la suite de ses travaux, réalisés à l'INRAE de Jouy-en-Josas dans l'équipe du Dr Ronan Le Goffic, sur l'impact de la protéine PB1-F2 des virus influenza A sur la réponse de l'hôte. Il a poursuivi par un post-doctorat à l'Institut Cochin (INSERM, Paris), où il s'est attaché à identifier les mécanismes responsables de la restriction cellulaire imposée sur la production et la propagation du VIH-1 chez le macrophage. En 2018, il a rejoint en post-doctorat l'équipe du Dr Christophe Chevalier (INRAE Jouy-en-Josas) pour approfondir l'étude de la protéine PB1-F2 et chercher à décrypter le mécanisme de formation et le rôle fonctionnel des cristaux intracellulaires de la protéine NS1 des virus influenza A. Depuis janvier 2021, Olivier Leymarie a intégré la ligne de lumière Proxima-1 du Synchrotron SOLEIL (Saint-Aubin, France), où il réalise un post-doctorat qui s'attache à développer une plateforme de cristallographie in cellulo afin d'étudier, par une approche systémique, l'ensemble des protéines du SARS-CoV-2.

De la caractérisation microscopique des composants des sols à l'étude dynamique de leur fonctionnement

Marine Lacoste*^a, Christian Le Lay^a

^a INRAE, URSOLS, 45075, Orléans, France.

* marine.lacoste@inrae.fr

Les sols constituent un système complexe encore méconnu et trop peu considéré par l'ensemble des citoyens, des décideurs et des aménageurs du territoire lors de la prise de décisions touchant à notre environnement. Les sols jouent pourtant un rôle clef dans le fonctionnement des écosystèmes et supportent de nombreux services écosystémiques (services d'approvisionnement, les services de régulation, les services culturels et les services d'auto-entretien). Les problématiques environnementales et socio-économiques actuelles (protection des sols et des réserves en eau, maintien d'une production agricole de qualité, etc.) nécessitent d'ailleurs de plus en plus l'étude de ces systèmes complexes, et ce à différentes échelles. La variabilité des propriétés des sols, dans l'espace et dans le temps, rend leur étude difficile voire coûteuse, notamment lorsqu'il est nécessaire de les observer de manière non destructive.

La structure des sols, i.e. l'organisation des agrégats et des pores, conditionne le stockage et le transport d'eau et de gaz dans le sol, et détermine donc fortement l'environnement physique et chimique des organismes du sol (plantes, micro et macro-organismes). C'est donc une propriété déterminante lorsque l'on considère la préservation de la qualité des différents compartiments de notre environnement (hydrosphère, atmosphère, pédosphère, biosphère). Les sols présentent des structures diverses, qui dépendent des propriétés des particules minérales et organiques qui les composent (nature, taille, forme, nombre) et évoluent dans le temps sous l'impact de différents facteurs en interaction (climat, activités humaines, activités de la flore et de la faune, des processus physico-chimiques). La structure du sol est donc une propriété déterminante lorsque l'on considère la préservation de la qualité des différents compartiments de notre environnement.

L'étude de la structure du sol et de sa dynamique, en lien avec ses conséquences sur le fonctionnement physique du sol, constitue donc aujourd'hui un enjeu majeur. Cette thématique est un des axes de recherche de l'UR SOLS (INRAE, Orléans), où sont menés des travaux sur la caractérisation de la structure du sol et de sa dynamique, notamment pour évaluer son rôle dans les émissions de gaz à effet de serre tels que le N²O ou les transferts d'eau. Dans ce contexte, des méthodes d'étude non destructives sont nécessaires et la mise en œuvre de techniques d'imagerie, permettant d'étudier les composants des sols et leurs structures à différentes échelles, est essentielle. Nous vous présenterons donc les travaux réalisés à l'UR SOLS mettant à profit des techniques d'imageries pour travailler à élucider les liens entre structure et fonctionnement du sol.



Marine Lacoste est Chargée de recherche à l'UR SOLS. Sa thématique de recherche porte sur l'analyse de la dynamique de la structure du sol sous l'effet de contraintes naturelles et anthropiques, en vue de proposer des modes de gestion des sols permettant d'optimiser conjointement certains services écosystémiques rendus par les sols.

Christian Le Lay est Assistant ingénieur à l'UR SOLS, où il est notamment responsable du laboratoire de confection de lames minces de sols et des activités en liens avec les techniques d'imageries par microscopie optique.



Développement de différentes méthodes de microscopie corrélative

Uzbekov R.^{1,2}, Garanina A.^{1,3}, Burlaud-Gaillard J.¹, Georgeault S.¹, Reynaud K.⁴, Alminana-Brines C.⁴, Saulnier J.⁴, Alyabyeva N.³, Saint-Dizier M.⁴, Mermillod P.⁴, Roingard P.¹

1 Département des Microscopies Biology Analisys Facility, Francois Rabelais University, Tours, France

2 Faculté de Bioingénierie et Bioinformatique, Université d'Etat de Moscou, Moscou, Russie

3 GREMAN, UMR CNRS 7347 Université François Rabelais Tours, France

4 INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Nouzilly, France

Chaque méthode microscopique possède des limitations. Grâce à la microscopie optique, nous pouvons observer la dynamique des processus dans des cellules vivantes, mais nous ne pouvons pas définir de façon exacte les détails de leur ultrastructure. La microscopie à fluorescence confocale permet d'étudier la localisation intracellulaire de plusieurs protéines à la fois, mais le lien précis à certains organites cellulaires ne peut être établi. La microscopie électronique nous donne des informations exhaustives sur l'ultrastructure des cellules, mais elle ne nous permet pas d'étudier directement l'organisation dynamique de la cellule. Ces limites d'utilisation conduisent à combiner chacune des méthodes microscopiques entre elles, lorsque les mêmes cellules sont étudiées successivement par plusieurs méthodes expérimentales. Ces dernières sont appelées microscopie corrélative. Dans le travail qui vous est présenté, l'auteur expose à la fois les méthodes traditionnelles de microscopie corrélative et de nouvelles méthodes.

La microscopie électronique à balayage (MEB) permet d'étudier la surface de l'objet, mais ne permet pas de voir sa structure interne. Après avoir trouvé l'objet qui nous intéressait en MEB, celui-ci a été inséré dans de la résine, puis coupé en séries ultra fines et étudié au microscope électronique à transmission (MET). Dans la première étude, grâce au MEB, des cellules infectées par le virus ont pu être identifiées, alors que le processus de maturation et l'exocytose des particules virales ont pu être étudiés à l'aide du MET. La deuxième étude a servi à montrer la nature de l'interaction avec le sperme des microvillosités des cellules épithéliales de l'oviducte des vaches in vitro.

Le développement de nouvelles méthodes de microscopie corrélative permet une étude plus détaillée de la morphologie et de la physiologie des cellules, combinant les avantages de diverses méthodes microscopiques et dépasser leurs limitations.



Rustem Uzbekov, ingénieur de recherche 1ère classe HDR est responsable des projets scientifiques que la Plateforme de Microscopie électronique de l'Université de Tours réalise avec des laboratoires nationaux et internationaux.

Imagerie moléculaire par microspectroscopie confocale Raman : de la cellule au tissu

Igor Chourpa*, Katel Hervé-Aubert, Emilie Allard-Vannier, Emilie Munnier
et Franck Bonnier

EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Université de Tours, Faculté de Pharmacie,
31 avenue Monge, Tours

* igor.chourpa@univ-tours.fr

Au cours de la dernière décennie, les approches analytiques fondées sur la diffusion inélastique de lumière connue sous le nom de spectroscopie Raman ont démontré leur potentiel dans plusieurs domaines recherche biomédicale. L'imagerie par microspectroscopie confocale Raman (IMCR), basée sur la spectroscopie Raman conventionnelle ou exaltée de surface (appelée SERS, comme surface-enhanced Raman scattering), est devenue incontournable, puisque cette méthodologie avancée permet de cartographier les composants moléculaires des cellules et des tissus avec une résolution spatiale submicrométrique [1-4]. Dans le présent exposé, nous souhaitons partager nos développements méthodologiques de l'IMCR appliqués dans deux domaines : la nanomédecine anti-cancéreuse [1, 2] et la dermo-cosmétologie [3, 4].

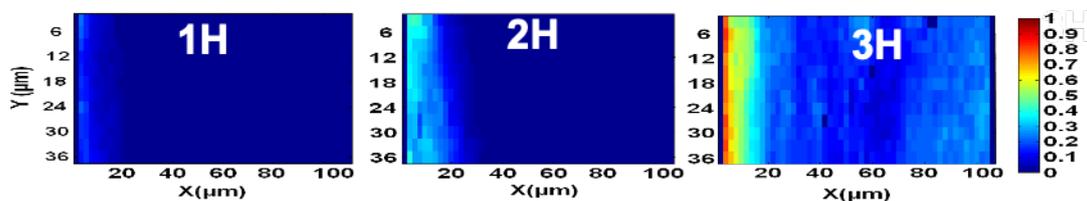


Figure : Les cartes générées par l'IMCR montrant la distribution et la cinétique de pénétration d'un actif cosmétique après son application sur la surface de la peau (limite gauche).

L'IMCR peut présenter plusieurs caractéristiques avantageuses, avec la possibilité d'analyse directe de nombreux échantillons bruts accompagnée d'une spécificité moléculaire élevée et avec un coût relativement faible. En cas de SERS, il faut ajouter une sélectivité et une sensibilité accrues. Cependant, les applications dans ces domaines représentent de nouveaux défis techniques et scientifiques. En effet, l'imagerie Raman ou SERS d'échantillons biologiques génère des données complexes et/ou sujettes à de fortes variations. Par conséquent, afin de gérer la nature complexe et le grand volume de données fournies par les outils bioanalytiques/de diagnostic modernes, une expertise en chimométrie est de plus en plus considérée comme indispensable.

Nous décrivons nos approches de l'IMCR appliquées à l'étude de molécules actives et formes pharmaceutiques/cosmétiques, en commençant par l'échelle cellulaire et en allant vers des tissus biologiques tels que la peau [3, 4]. Nous décrivons également le développement de nouvelles nanosondes SERS pour l'imagerie biomédicale multimodale, outil performant dans le diagnostic des cancers [1, 2].

[1] Sensitive Trimodal Magnetic Resonance Imaging-Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering-Fluorescence Detection of Cancer Cells with Stable Magneto-Plasmonic Nanoprobes. Carrouée A, Allard-Vannier E, Mème S, Szeremeta F, Beloeil JC, Chourpa I. *Anal Chem.* 2015 Nov 17;87(22):11233-41.

[2] Pacaud M, Hervé-Aubert K, Soucé M, Makki AA, Bonnier F, Fahmi A, Feofanov A, Chourpa I. One-step synthesis of gold nanoflowers of tunable size and absorption wavelength in the red & deep red range for SERS spectroscopy. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2020, 225:117502. doi: 10.1016/j.saa.2019.117502

[3] Miloudi L, Bonnier F, Tfayli A, Yvergnaux F, Byrne HJ, Chourpa I, Munnier E. Confocal Raman spectroscopic imaging for in vitro monitoring of active ingredient penetration and distribution in Reconstructed Human Epidermis model. *J Biophotonics* 2018, 11(4): e201700221. doi: 10.1002/jbio.201700221.

[4] Munnier E, Al Assaad A, David S, Mahut F, Vayer M, Van Gheluwe L, Yvergnaux F, Sinturel C, Soucé M, Chourpa I, Bonnier F. Homogeneous distribution of fatty ester-based active cosmetic ingredients in hydrophilic thin films by means of nanodispersion. *Int J Cosmet Sci.* 2020, 42(5):512-519. doi: 10.1111/ics.12652.

Remerciements

Ce travail a été soutenu par les bourses MINERVA (MENESR N°321, dans le cadre du programme ERA-NET RUS PLUS), la région Centre val de Loire (COSMIC 2015-00103497, MISTIC 2017-00118114) et le FEDER (N°EX003257).



Igor Chourpa a obtenu son doctorat en Sciences Physico-chimiques et technologies Pharmaceutiques à l'Université de Reims Champagne-Ardennes, en 1996. Il a rejoint l'Université de Tours, Faculté de Pharmacie, en 1997. En 2005, il y a créé un nouveau laboratoire de recherche interdisciplinaire spécialisé en méthodes bio-analytiques et en nanomédecine, pour vectorisation de médicaments et/ou pour le diagnostic. Depuis, il dirige ce laboratoire labélisé depuis 2012 en tant que l'EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes. Son domaine d'expertise spécifique est la spectroscopie optique moléculaire (Raman, SERS, fluorescence et IR) et l'imagerie spectrale correspondante. Il a

*signé plusieurs travaux pionniers dans ce domaine. Il a publié une centaine d'articles dans des revues internationales et 2 chapitres de livres. Il a une expérience dans la coordination de projets de recherche nationaux et internationaux et agit en tant qu'expert pour de nombreux appels. Il est membre du comité de rédaction du journal *Pharmaceutics*.*

Apport de l'imagerie hyperspectrale en ATR-FTIR et du RNA-Seq sur échantillons microdissequés par capture laser pour la compréhension de la formation des parois cellulaires du bois

Clément CUELLO ^{a,£,*1}, Françoise LAURANS ^{a,b,*2}, Marie-Claude LESAGE-DESCAUSES ^{a,b},
Véronique LAINE-PRADE ^{a,b}, Odile ROGIER ^a, Laurent CHAPILLON ^a, Aurélien Chateigner
^a, Julien MILLE ^c, Gilles PILATE ^{a,b}, Annabelle DEJARDIN ^a

^a INRAE, ONF, BioForA, Orléans, France

^b INRAE, LICA, Orléans, France

^c LIFAT, EA6300, INSA Centre Val de Loire, 41034 Blois, France

[£] Present address: Université de Tours, EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales,
Tours, France

*¹ clement.cuello@univ-tours.fr

*² francoise.laurans@inrae.fr

Grâce aux propriétés remarquables du bois, les arbres peuvent atteindre des hauteurs et des durées de vie importantes. Le bois ou xylème secondaire, forme un tissu complexe et résistant qui assure à la fois la conduction de la sève brute de la racine au houppier, le soutien mécanique de la masse toujours en croissance et le stockage et la restitution de réserves capitales pour la pérennité de l'arbre. Chez les feuillus, ces fonctions sont assurées respectivement par trois types cellulaires différents, les vaisseaux, les fibres et les cellules parenchymateuses constituant les rayons ligneux [1]. Chacune de ces cellules possède son propre schéma de développement et c'est au cours de leur processus de différenciation et plus particulièrement de la mise en place de leurs parois que sont déterminées les futures propriétés du bois. Il est donc primordial d'identifier à l'échelle cellulaire, les acteurs moléculaires impliqués dans la formation du bois pour comprendre ce qui contrôle ses propriétés physiques et mécaniques.

Pour ce faire, nous avons développé une approche combinant une technique de microphénotypage des parois des fibres de bois par imagerie hyperspectrale en infrarouge à transformée de Fourier en réflectance totale atténuée (ATR-FTIR) et la microtranscriptomique d'échantillons cellulaires obtenus par microdissection laser.

Le microphénotypage par microscopie ATR-FTIR, méthode non destructrice, permet de s'affranchir de la complexité du tissu bois et de caractériser finement la composition des parois de chacun des différents types cellulaires [2]. De par sa résolution, elle permet de prendre des spectres en moyen infra-rouge à l'échelle de la paroi cellulaire et de renseigner la nature des molécules présentes dans la paroi et leurs assemblages moléculaires. L'objectif est de mettre en évidence des signatures spectrales caractéristiques de chaque type cellulaire.

L'analyse RNAseq d'échantillons préparés par microdissection laser permet pour sa part de caractériser les transcriptomes spécifiques des différents types cellulaires et de révéler l'existence d'éventuelle spécificité cellulaire.

L'exposé présentera les potentialités et les limites de l'intégration des données de microphénotypage et de microtranscriptomique pour la compréhension de la construction des parois secondaires des cellules de bois.

Ce travail a été financé par le projet 'StressInTrees' (ANR-12-BS09-0004) et par le projet 'OPeNSPeNU' (Région Centre Val de Loire, APR-IR #2016-00108472). Les auteurs remercient la plateforme OV-Cytologie/Imagerie de l'INRA de Versailles ainsi que la plateforme de séquençage GenomeEast de l'IGBMC de Strasbourg.

[1] Déjardin et al., 2010, Comptes Rendus Biologies, [10.1016/j.crv.2010.01.010](https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.01.010)

[2] Cuello et al., 2020, Frontiers in Plant Science, [10.3389/fpls.2020.00105](https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00105)





Après des études d'ingénieur en génétique, pathologie et amélioration des plantes à l'ISARA-Lyon, Clément Cuello a réalisé sa thèse à l'UMR BioForA (INRAE Val de Loire) sous la direction de Dr Annabelle Déjardin et de Dr Gilles Pilate. Sa thèse a permis le développement d'approches permettant la caractérisation du phénomène et du transcriptome à l'échelle cellulaire. Clément a depuis rejoint l'équipe d'accueil Biomolécules et Biotechnologies Végétales de l'Université de Tours dans le cadre d'un post-doctorat sous la direction de Dr Vincent Courdavault.



Françoise Laurans est Ingénieure de recherche au sein de l'Unité BioForA du Centre INRAE Val de Loire où elle coanime depuis 2014 l'équipe « Physiologie moléculaire de la formation du bois ». Après un DEA en Biologie Forestière, un doctorat en Physiologie Végétale et plusieurs expériences postdoctorales, elle s'est spécialisée en anatomie du bois et dans le développement de technique d'histologie pour l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans la formation du bois. Elle s'intéresse plus particulièrement à la définition de la composition des parois secondaires des fibres de bois de peuplier par imagerie multiéchelle et multimodale. Actuellement, Françoise est responsable du laboratoire d'histo-cytologie de l'Unité BioForA et du Pôle imagerie du Laboratoire d'Ingénierie Cellulaire de l'Arbre (LICA).

Couplage des imageries confocale-IRM-spectrométrie de masse pour l'étude d'un organe reproducteur.

Xavier Druart, Hans Adriaensen, Frédéric Elleboudt, Gilles Gomot, Valérie Labas,
François Lecompte, Ana-Paula Teixeira

UMR PRC Centre INRAE Val de Loire, Tours-Nouzilly, France
xavier.druart@inrae.fr

Cette présentation a pour objectif de présenter le couplage de différentes modalités d'imagerie à travers des exemples liés à la fonction de reproduction. En particulier l'association de méthodologies de type IRM, histologie (reconstruction de type blockface), endomicroscopie confocale à fluorescence (Cellvizio), imagerie de fluorescence Spectrum et imagerie MALDI-TOF permet de déterminer l'anatomie d'un organe complexe comme le col de l'utérus à différentes échelles.



Xavier Druart est directeur de la plateforme PIXANIM de l'INRAE de Tours-Nouzilly (Phénotypage In / eX vivo de l'ANimal à la Molécule). La plateforme PIXANIM propose un ensemble de technologies d'imagerie avec différentes modalités (IRM, CT Scan, endomicroscopie, échographie 3D, spectrométrie de masse MALDI-TOF) s'appliquant à différentes échelles (corps entier, organe, tissu, cellules pro- et eucaryotes) et pouvant être combinées à des outils d'analyses moléculaires (spectrométrie de masse haute résolution Orbitrap) en protéomique et lipidomique.

Jeudi 25 Novembre 2021



Présentation du Groupe Transparisation du RTMFM

Romina D'Angelo^a, David Godefroy^b, Geneviève Conéjéro^{c*}, Laurence Dubreil^{d*}, François Michel^e, Matthieu Simion^f, Jeremie Teillon^g

^a INSERM U1048 –I2MC - CHU Rangueil -31432 Toulouse

^b INSERM U1239, Univ. de Rouen Normandie, place Emile Blondel 76821 Mont S^t-Aignan

^c UMR 5004 B&PMP INRAE place Viala, 34060 Montpellier

^d UMR703 PAnTher INRAE Oniris, Oniris site de la chantrerie 44307 Nantes

^e INMED U1249-INSERM, Parc Scientifique de Luminy -13273 MARSEILLE

^f Institut des Neurosciences, Campus CEA Saclay, 151 route de la Rotonde 91400 Saclay

^g UMS 3420 Univ. Bordeaux, 146, Rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux

transparisation@groupes.renater.fr

* genevieve.conejero@inrae.fr, *laurence.dubreil@oniris-nantes.fr

Ces dernières années nous avons pu constater un intérêt croissant pour les techniques de « transparisation ». Ces nouvelles approches dans le traitement chimique des échantillons permettent, via des techniques d'imagerie adaptées, d'obtenir des images tridimensionnelles sur plusieurs mm³ voire plusieurs cm³ avec une résolution micrométrique.

Le groupe Travail « transparisation » créé en 2018 via le réseau du RtmFm, mènent différentes actions pour soutenir la communauté scientifique (Ingénieurs, techniciens, étudiants, chercheurs) dans la mise en œuvre des méthodes de transparisation dans les plateformes et/ou les unités de recherche. Les différentes initiatives pilotées par le groupe (Formations, Journées Thématiques, Tables rondes, mailinglist, etc.) ont permis également de créer une communauté dynamique et d'échanges de savoir-faire autour de la "transparisation".

L'une des missions principales de ce groupe est le travail dans la transversalité : technologique (types de microscopies), thématique (types de méthodes de transparisation) et échantillons biologiques (tissus, organes, animaux entiers vertébrés non-mammifère et le végétal) avec le partage d'expertise et des protocoles concernant les techniques de « transparisation », l'observation des échantillons épais et l'analyse des données.

Les problématiques que nous avons identifiées et verrous associés relèvent du domaine des immunomarquages, des montages spécifiques et adaptés selon le milieu de transparisation et leur compatibilité avec le système de microscopie identifié.

La transparisation permet d'imager des échantillons de grosse taille en accédant à des profondeurs d'acquisition de plus en plus importantes. Le parc de microscopes disponibles rendant possibles ce type d'imagerie pour la communauté scientifique de proximité est varié, et demande des adaptations, des mises au point selon le type d'appareil disponible.

La maîtrise technique du montage des échantillons, les paramétrages des systèmes d'acquisitions sont autant de facteurs qui peuvent avoir des impacts très importants sur la reproductibilité, les temps d'acquisition et au final les coûts de réalisation. Autre aspect, la gestion de la volumétrie de données importantes, ainsi que l'extraction des résultats d'une image demande de nouvelles expertises et savoir-faire.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le projet du Groupe de Travail « Transparisation et Imagerie des échantillons épais »





Geneviève Conéjéro est ingénieur de recherche INRAE (UMR B&PMP, centre Occitanie-Est Montpellier), responsable opérationnelle de la plateforme d'Histocytologie et Imagerie Cellulaire Végétale PHIV localisée sur deux sites, Cirad et INRAE Montpellier. Elle a également été responsable opérationnelle de la plateforme régionale d'imagerie MRI (Montpellier Ressources Imagerie) de 2013 à 2018. Elle est membre du Groupe de Travail « Transparisation » du RTmfm depuis 2018 et du groupe de travail Core facility Staff de France-BioImaging depuis 2019. Elle est aussi membre du comité de pilotage du R_µl et animatrice du groupe de travail Imagerie de la Plante du GDR Imabio depuis 2012.



Laurence Dubreil est Ingénieure de Recherche, responsable de la composante Bio-imagerie de la plateforme APEX UMR703 PAnTher INRAE Oniris localisée à Oniris site de la chantrerie à Nantes. Elle est membre du Groupe de Travail « Transparisation » du RTmFMm depuis 2018, membre du comité de pilotage du R_µl et secrétaire SDV de la Société Française des Microscopies (SF_µ).

Combinaison de plusieurs méthodes d'imagerie pour déchiffrer les interactions hôte pathogène à différentes échelles

Christelle Langevin

Université Paris-Saclay, INRAE, IERP UE0907, Jouy-en-Josas, France.

Contexte : Le virus respiratoire syncytial (VRS) est la principale cause de maladie respiratoire chez les jeunes enfants et un agent pathogène important pour les personnes à risque. À ce jour, la physiopathologie de la maladie et son diagnostic reposent principalement sur la radiographie pulmonaire, l'histologie et la détection du génome viral dans des écouvillonnages nasopharyngés. Cela nous a motivé à développer de nouvelles approches d'imagerie pour mieux comprendre le tropisme du RSV dans les voies respiratoires, sa propagation, les interactions virus-hôte et les atteintes tissulaires au niveau du poumon entier. **Méthodes** : En combinant l'immunohistochimie in toto, la transparence des tissus, la microscopie 3D et le traitement d'images, nous avons développé un nouvel outil de visualisation de l'infection par le VRS dans les poumons de souris non sectionnés. **Résultats** : L'analyse d'organes entiers a permis de visualiser et d'identifier les cellules cibles du virus, de décrire leur morphologie et leur distribution dans le tissu. Les niveaux de résolution atteints nous ont également permis de mettre en évidence les corps d'inclusion du VRS, considérés comme des usines virales, marqueurs de l'infection par le VRS. **Conclusions** : La transparence du poumon entier et l'imagerie profonde en 3D permettent une visualisation de l'infection à l'échelle du poumon entier et à haute résolution pour une analyse sans précédent de la physiopathologie du VRS. Ces méthodes viennent donc renforcer/ compléter les analyses histologiques 2D sur coupes fines et les examens d'imagerie médicale moins résolutive notamment pour l'analyse de biopsies de tissus infectés.

[Respiratory syncytial virus tropism for olfactory sensory neurons in mice.](#)

Bryche B, et al. *J Neurochem.* 2020 Sep;155(2):137-153. doi: 10.1111/jnc.14936. Epub 2020 Jan 8. PMID: 31811775

[New Look at RSV Infection: Tissue Clearing and 3D Imaging of the Entire Mouse Lung at Cellular Resolution.](#)

Frétaud M, et al. *Viruses.* 2021 Jan 28;13(2):201. doi: 10.3390/v13020201. PMID: 33525646



Christelle Langevin est chargée de recherche à l'INRAE de Jouy en Josas depuis 2010. Ses projets sont centralisés sur l'étude des interactions hôtes-pathogènes principalement abordées par des approches d'imagerie photonique. Au cours de sa carrière, elle a développé des approches expérimentales basées sur la combinaison de modèles in vitro (cultures primaires, de cultures organotypiques) et in vivo (poissons zèbre, rongeurs). Ces modèles ont été caractérisés par imagerie à fluorescence pour l'étude de maladies infectieuses (virales et prion) tant en santé animale qu'en santé humaine. Aujourd'hui, elle est responsable scientifique d'un plateau de phénotypage par imagerie in vivo et transparence. Son unité fait partie du labex NanoSaclay, de la communauté InnaSCo et des réseaux internationaux EMERG'IN et VetBioNet.

Les organoïdes, de nouveaux modèles de culture *in vitro* pour une meilleure compréhension du vivant

Sonia Lacroix-Lamandé* et Karine Reynaud #

*UMR 1282 ISP Centre INRAE Val de Loire, Tours-Nouzilly, France

<http://www.val-de-loire.inra.fr/infectiologie-santepublique>

UMR PRC Centre INRAE Val de Loire, Tours-Nouzilly, France

<http://www.val-de-loire.inra.fr/prc>

Les organoïdes sont des mini-organes maintenus en culture *in vitro*. Ils sont générés à partir de cellules souches progénitrices adultes, ou de cellules souches induites (iPS). Ces cellules s'auto-organisent en 3D dans un environnement matriciel (hydrogel ou matrigel). Les milieux de culture utilisés sont riches en facteurs de croissance et de différenciation, et sont spécifiques à chaque tissu/organe et espèce animale. La culture en 3D permet de conserver une architecture et des fonctionnalités qui se rapprochent de celles des tissus dont les cellules dérivent. La culture d'organoïdes est aujourd'hui très développée pour répondre à de nombreuses questions scientifiques en infectiologie, en physiologie, ou encore pour la recherche de nouveaux médicaments et du screening thérapeutique...mais également, dans le but de réduire l'usage des animaux en recherche. Des exemples de culture d'organoïdes d'intestin et d'oviducte et d'applications potentielles chez plusieurs espèces seront présentés.



*Sonia Lacroix-Lamandé est chercheur dans l'UMR 1282 ISP Centre INRAE Val de Loire, Tours-Nouzilly depuis environ 20 ans. Elle est immunologiste et étudie la réponse immunitaire protectrice pendant une infection par le parasite protozoaire *Cryptosporidium parvum*. Elle co-dirige une équipe qui s'intéresse aux infections par 2 parasites Apicomplexe à tropisme intestinal : *Cryptosporidium* chez l'Homme et les ruminants et le parasite *Eimeria* qui touche la filière volaille. Dans ce contexte, elle cherche à obtenir des modèles *in vitro* pour étudier les relations parasite - cellules épithéliales intestinales, d'où l'utilisation des organoïdes intestinaux.*



*Karine Reynaud est chercheur dans l'UMR Physiologie de la Reproduction Comportements (PRC) au centre INRAE Val de Loire. Après avoir travaillé sur l'ovocyte et la physiologie de l'ovaire de différentes espèces (souris, chienne, brebis, femme), elle développe maintenant 2 modèles cellulaires *in vitro* (sphéroïdes et organoïdes) pour mieux comprendre les rôles de l'oviducte dans la sélection/survie des spermatozoïdes, la fécondation et le développement de l'embryon avant son implantation dans l'utérus.*

La transparisation dans toute sa splendeur. Quoi, pourquoi, comment et encore ...

Katia Belcram

Institut Jean-Pierre Bourgin, INRAE, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78000,
Versailles, France
katia.belcram@inrae.fr

La transparisation des échantillons pour la microscopie est utilisée depuis de nombreuses années sur les tissus végétaux pour le phénotypage. L'évolution récente des protocoles de transparisation a permis non seulement de diminuer le risque chimique mais offre désormais la possibilité de conserver et d'imager les protéines fluorescentes, de faire des acquisitions permettant les reconstructions en 3D, et d'obtenir des données morphométriques à l'échelle de l'organe. Au cours de ce séminaire, je présenterai les protocoles que j'ai mis en place sur la plate-forme et leurs applications.

- 1- Schaefer, E., Belcram, K., Uyttewaal, M., Duroc, Y., Goussot, M., Legland, D., Laruelle, E., Tauzia-Moreau, M.-L. de, Pastuglia, M., and Bouchez, D. (2017). The preprophase band of microtubules controls the robustness of division orientation in plants. *Science* 356, 186–189.
- 2- Belcram, K., Palauqui, J.-C., and Pastuglia, M. (2016). Studying Cell Division Plane Positioning in Early-Stage Embryos. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 1370, 183–195.
- 3- Moukhtar, J., Trubuil, A., Belcram, K., Legland, D., Khadir, Z., Urbain, A., Palauqui, J.-C., and Andrey, P. (2019). Cell geometry determines symmetric and asymmetric division plane selection in Arabidopsis early embryos. *PLOS Comput. Biol.* 15, e1006771.
- 4- Katia Belcram, David Legland, and Martine Pastuglia. Quantification of cell division angles in the Arabidopsis root. *Methods Mol. Biol.* In press

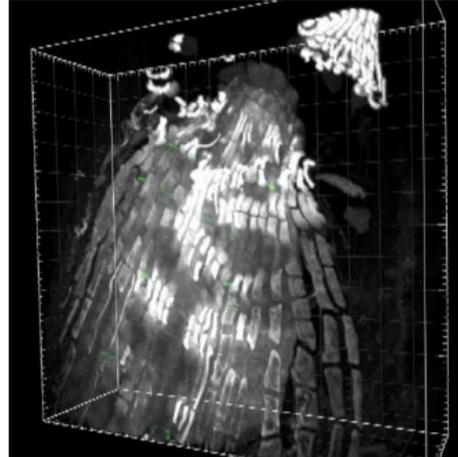
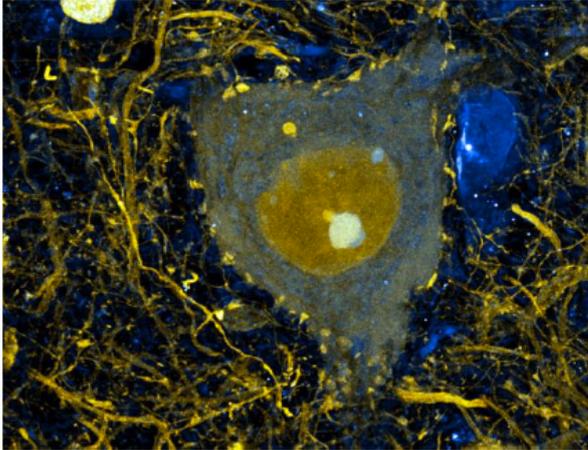
Assistante ingénieure pour la plateforme de cytologie et imagerie du végétal de l'IJPB depuis 2003 et rattachée à une équipe de recherche, Katia Belcram est spécialisée en imagerie 3D multi-échelle et analyse d'image. Elle a notamment développé des protocoles d'immunolocalisation sur tissus entiers pour l'étude spatiale de la division cellulaire [1, 2], ainsi que des protocoles permettant l'étude morphologique de différents tissus (coloration des contours cellulaires, transparisation) et la génération de données morphométriques fiables en 3D [3,4].



La microscopie d'expansion, une alternative abordable aux techniques classiques de super-résolution.

Mónica Fernández-Monreal

*Bordeaux Imaging Center,
Univ. of Bordeaux, CNRS, INSERM, UMS 3420, US 4, F-33000 Bordeaux, France
Monica.Fernandez-Monreal@u-bordeaux.fr*



La microscopie d'expansion est devenue une technique révolutionnaire pour observer le matériel biologique en très haute résolution. Des chercheurs du Massachusetts institute of technology (MIT) ont eu la brillante idée de dilater l'échantillon pour mieux l'observer par microscopie conventionnelle. Aujourd'hui, cette méthode très simple et bon marché est utilisée par de nombreux laboratoires d'imagerie biologique.

Au Bordeaux imaging center (BIC), nous utilisons cette technique en routine, plus particulièrement la version originale du MIT développée par Ed Boyden en 2014. Nous avons appliqué cette technique sur plusieurs échantillons biologiques : cellules en cultures, tissus et plantes. Nous avons pu constater que la microscopie d'expansion peut être considérée comme une alternative abordable aux techniques classiques de super-résolution.

Mónica Fernández-Monreal, PhD.

J'ai obtenu mon doctorat en neuroscience à l'Université de Caen en 2003. Depuis, j'ai réalisé des stages postdoctoraux en appliquant plusieurs techniques d'imagerie aux neurosciences, d'abord au Mount Sinai Medical School de New York puis au Centro de Biología Molecular Severo Ochoa à Madrid.

En 2016 j'ai obtenu un poste d'ingénieure de recherche CNRS au BIC pour mettre en place des méthodes corrélatives et de microscopie d'expansion.



Publications récentes :

Getz et al, 2021. High-resolution imaging and manipulation of endogenous AMPA receptor surface mobility during synaptic plasticity and learning
BioArxiv preprint.

Arizono et al, 2021. Super-resolution shadow imaging reveals local remodeling of astrocytic microstructures and brain extracellular space after osmotic challenge. *Glia*

Fernández-Monreal and Ducros, 2021. 1.2.b Lattice light sheet microscopy
[Imaging Modalities for Biological and Preclinical Research: A Compendium, Volume 1: Part I: Ex vivo biological imaging]

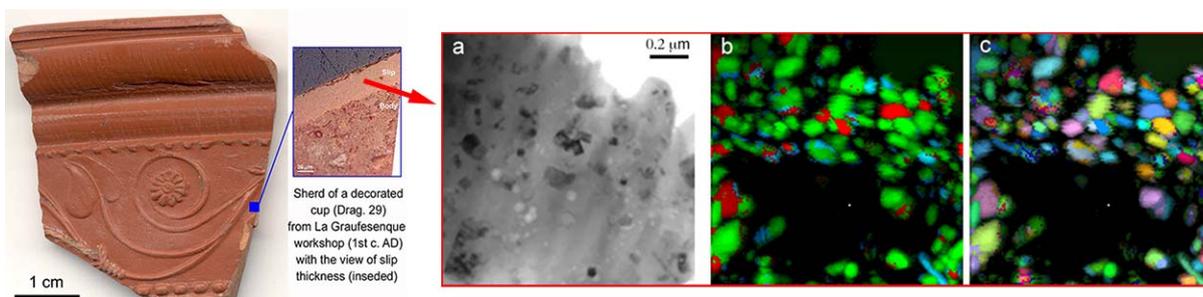
Rimbault et al, 2021. Engineering paralog-specific PSD-95 synthetic binders as potent and minimally invasive imaging probes. *BioArxiv preprint*.

Apport de la microscopie électronique en transmission à l'étude des matériaux du patrimoine culturel

Philippe Sciau

CEMES, CNRS, Université de Toulouse, 29 rue J. Marvig, 31055 Toulouse
philippe.sciau@cemes.fr

Les techniques d'analyses développées en science des matériaux sont maintenant largement appliquées aux objets archéologiques et historiques afin d'obtenir des informations sur leur composition chimique et structurale. Ces informations sont souvent indispensables pour identifier les matières premières ayant servi à leur élaboration et plus généralement pour reconstituer, au moins partiellement, les procédés de fabrication. Associées à des études archéologiques et historiques, elles aident également à appréhender la technicité des productions, à mettre en évidence des changements ou évolutions technologiques et à en suivre la diffusion. Mais l'apport de la science des matériaux ne se limite pas aux moyens d'analyse et à la caractérisation physicochimique des objets [1]. Les relations élaboration/structure/propriétés/performance, au cœur des problématiques de la science des matériaux, sont de plus en plus prises en compte dans l'étude des matériaux du patrimoine culturel. Ces études n'ont pas seulement comme objectif une détermination chimique et structurale du matériau mais également d'essayer d'appréhender à la fois l'adéquation entre la sélection des matières premières et les processus d'élaboration ainsi que les relations entre les propriétés physiques et la fonction et l'utilisation de l'objet. Inversement, l'étude des artefacts anciens constitués de matériaux souvent complexes et hétérogènes est un challenge pour la science des matériaux. Elle demande de pousser à la fois les techniques de caractérisation, les modélisations et la compréhension des mécanismes de base dans leur retranchement ultime. Elles peuvent aussi être une source d'inspiration dans la conception de nouveaux matériaux. A travers des exemples d'études de poteries anciennes, un des tout premiers matériaux synthétisé par l'homme à grande échelle, la présentation cherchera à illustrer certains de ces aspects en mettant l'accent sur les apports de la microscopie électronique en transmission dans une démarche de caractérisation structurale du macro au nano [2, 3]. Les questions de prélèvement et de représentativité de la zone analysée seront particulièrement discutées.



Fragment d'une sigillée sud gauloise de la période romaine (I^o s. ap. JC). Image MET en champ clair (a) d'une petite zone de la couverte et cartographies de la distribution de phases (b) et d'orientation (c) obtenues à partir des diagrammes de diffraction électronique (ASTAR technique). La couverte, ou engobe, est constituée d'une matrice vitreuse contenant principalement des cristaux de corindon (en vert), d'hématite (en rouge) et de spinelle (en bleu). La cartographie d'orientation (c) montre que ces cristaux ne présentent pas d'orientation préférentielle.

- [1] Ceramics in art and archaeology: a review of the materials science aspects. Ph. Sciau, Ph. Goudeau (2015). *Eur. Phys. J. B* 88, 132 (DOI: 10.1140/epjb/e2015-60253-8).
- [2] Transmission Electron Microscopy: Emerging Investigations for Cultural Heritage Materials. Ph. Sciau (2016). *Advances in Imaging and Electron Physics* 198, 43-67 (DOI: 10.1016/bs.aiep.2016.09.002).
- [3] Spectroscopy and diffraction using the electron microscope (Chapter 3). Ph. Sciau, M. Godet. In *Spectroscopy, Diffraction and Tomography in Art and Heritage Science* (Mieke Adriaens and Mark Dowsett (Ed.), Elsevier 2021, pp 71-102 (ISBN: 978-0-12-818860-6)

Philippe Sciau, directeur de recherche CNRS est animateur de la thématique Matériaux du patrimoine Culturel et Industriel du Centre d'Élaboration de Matériaux et d'Études Structurales (UPR 8011). Cette activité, développée en étroite collaboration avec des laboratoires d'archéologies et d'histoires, se positionne au croisement de la science des matériaux, de l'histoire des techniques et de l'archéologie. Plus précisément, la démarche consiste à étudier des objets archéologiques, ou historiques en se focalisant sur les matériaux qui les composent. C'est le matériau qui est la cible principale de l'étude et non l'objet en lui même.

<https://www.cemes.fr/Materiaux-du-patrimoine-culturel>





Vendredi 26 Novembre 2021



Analyse d'images à l'aide de graphes et de réseaux profonds

Jean-Yves Ramel

LIFAT (EA6300), Université de Tours, 64 avenue Jean Portalis, Tours, 37200, France.
jean-yves.ramel@univ-tours.fr

La présentation exposera de manière assez vulgarisée comment les techniques récentes d'intelligence artificielle combinant réseaux de neurones profonds (Deep Learning) et représentation des données sous forme de graphes peuvent être utilisées efficacement pour produire des systèmes d'analyses d'images ou de données médicales. Après une brève description des concepts principaux, différents exemples d'applications permettront de mettre en avant les propriétés intéressantes de ce type de méthodes telles que leur interactivité, leur généralité et leur interprétabilité.



Jean-Yves Ramel est actuellement Professeur d'informatique à PolytechTours. Ses activités de recherche actuelles portent principalement sur les techniques d'Intelligence Artificielle (apprentissage machine, reconnaissance des formes) appliquées à l'analyse d'images (images de documents ou images médicales). Il a été responsable de l'équipe Reconnaissance des formes et Analyse d'images (RFAI) de 2011 à 2017 puis directeur du Laboratoire d'Informatique Fondamentale et Appliquée de Tours (LIFAT) de 2018 à 2021. Jean-Yves Ramel avait auparavant obtenu sa thèse de doctorat en Informatique à l'INSA de Lyon où il a été ensuite Maître de conférences pendant 4 ans avant de venir travailler au sein de l'Université de Tours depuis 2002.

Traitement d'image 4D (espace + temps) pour caractérisation quantitative de la croissance et de la déconstruction des plantes

Yassin Refahi^{*a}, Gabriel Paës^a, Jan Traas^b, Henrik Jönsson^c

^a Fractionation of AgroResources and Environment (FARE) laboratory, INRAE, University of Reims Champagne Ardenne, Reims, France

^b Laboratoire RDP, Université de Lyon 1, ENS-Lyon, INRAE, CNRS, UCBL, 69364 Lyon, France

^c The Sainsbury Laboratory, University of Cambridge, Bateman Street, Cambridge CB2 1LR, UK

* yassin.refahi@inrae.fr

Pour caractériser la croissance des cellules dans un contexte multicellulaire, nous avons développé un pipeline d'imagerie 4D et l'avons appliqué pour suivre et quantifier les cellules dans les méristèmes apicaux d'*Arabidopsis thaliana*. Les résultats nous ont permis de réfuter l'hypothèse non examinée selon laquelle les cellules de meristem se divisent à une taille critique ou après qu'une période de temps fixe s'est écoulée. Nous avons montré que les cellules suivent une règle de régulation de la taille qui est intermédiaire entre la division à une taille critique et l'ajout d'un incrément critique [1]. Nous avons ensuite utilisé le pipeline d'imagerie pour étudier le lien entre la régulation des gènes et la croissance pendant les premiers stades du développement des fleurs d'*Arabidopsis* et nous avons généré un atlas 4D du développement de fleur d'*Arabidopsis* incluant les taux de croissance cellulaire et les patrons d'expression des gènes. En utilisant des modèles mathématiques, nous avons constaté que le réseau de régulation génétique extrait de la littérature n'expliquait qu'une minorité des patrons d'expression des gènes. Cela a été considérablement amélioré en ajoutant des hypothèses régulatrices pour des gènes individuels. Une étude corrélative entre la croissance et l'expression des gènes nous a permis de proposer un ensemble d'hypothèses sur le rôle des gènes individuels dans la morphogenèse [2]. Nous avons ensuite adapté et développé le pipeline d'imagerie 4D pour étudier la déconstruction de la biomasse lignocellulosique au cours de l'hydrolyse enzymatique qui peut être considérée comme le mécanisme opposé par rapport à la croissance [3]. Un défi à surmonter était la dégradation de la paroi cellulaire pendant l'hydrolyse qui rendait les algorithmes de segmentation classiques inadaptés. Par conséquent, une méthode innovante a été développée qui utilise la segmentation avant l'hydrolyse pour calculer la segmentation des images pendant l'hydrolyse. Les quantifications ont suggéré des corrélations quantitatives reliant les marqueurs de déconstruction à travers les échelles.

Les outils de quantification sont intégrés dans un logiciel de manipulation et d'analyse d'images 4D, appelée BIOMODLAB qui intègre divers composants pour visualiser et analyser des jeux de données 4D fournissant une interface unique intégrant des outils de traitement d'images pour obtenir des données quantitatives précises requises pour l'analyse et la modélisation des processus biochimiques [4].

[1] Willis, L., Refahi Y., et al. "Cell size and growth regulation in the *Arabidopsis thaliana* apical stem cell niche." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113.51 (2016): E8238-E8246.

[2] Refahi, Y., et al. "A multiscale analysis of early flower development in *Arabidopsis* provides an integrated view of molecular regulation and growth control." *Developmental Cell* 56.4 (2021): 540-556.

[3] Zoghalmi, A., et al. "Multimodal characterization of acid-pretreated poplar reveals spectral and structural parameters strongly correlate with saccharification." *Bioresource technology* 293 (2019): 122015.



[4] Fal, Kateryna, et al. "Tissue folding at the organ–meristem boundary results in nuclear compression and chromatin compaction." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118.8 (2021).

Yassin Refahi a obtenu son doctorat en informatique de l'Université de Montpellier en 2011. Il a fait sa thèse dans Equipe Projet INRIA Virtual Plants sous la direction de Christophe Godin (INRIA) sur la modélisation de multiéchelle de perturbation de la phyllotaxie d'Arabidopsis thaliana. Après un post-doctorat avec Jan Traas (ENS Lyon), Yassin était "research associate" dans l'équipe de Henrik Jönsson, Sainsbury Laboratory, Cambridge, Royaume-Uni. Depuis, 2017, Yassin est chargé de Recherche à l'UMR FARE, Reims et il utilise une combinaison de la modélisation 4D (espace + temps) multi-échelles et de traitement d'image 4D (espace + temps) afin d'améliorer la compréhension de la déconstruction de la biomasse lignocellulosique.



Toward predicting gene expression and metabolism from label free spectral imaging

Arno Germond^{1,2*}, V. Kumar², T. Ichimura², C. Furusawa^{1,2}, T.M Watanabe²

¹ INRAE, Theix, France

² RIKEN 2-6-3 Furuedai, Suita, Osaka 565-0874, JAPAN

[*arno.germond@gmail.com](mailto:arno.germond@gmail.com)

Label-free spontaneous Raman spectroscopy is a powerful tool to identify the molecular composition of living cells and detect slow metabolic shifts in living cells. With recent technical improvements of the detectors and optics, vibrational spectral imaging has become a fast and reliable technique. My recent researches conducted in Japan aimed at developing a multivariate, predictive model to integrate transcriptomic data with label-free spectral profile of living cells. We used mutant cell lines of *Escherichia coli*, which exhibit few mutations. First, we show the possibility to classify and predict 11 classes of bacteria based on their label-free Raman spectra (fingerprint), obtained from single-cell measurements. We developed a linear regression model to combine label free spectra with transcriptomic data. This model enabled to predict the expression levels of more than 2600 genes from the spectral data of unknown *E. coli* cell line, with 81 to 96 % accuracy depending on the tested cell line. Then, our analytical approach enable to highlight the major metabolic functions that are possibly activated in each cell line. The metabolic activities can then be confirmed by conventional approach. While this approach is still « young », it is surely promising. We hope that this approach can enable biologists to extract relevant biological information from the complex Raman spectral fingerprint. We believe this research will be an important milestone in label-free spectroscopy applications.



Après un master à Dijon en microbiologie et biostatistique, j'ai passé 12 ans de ma vie au Japon où j'ai développé une expertise en biophysique et en biologie cellulaire. J'ai travaillé 5 ans comme responsable de plateforme d'imagerie (spectroscopie Raman et IR) à l'institut RIKEN au Japon. Mes recherches visent à développer des solutions innovantes pour étudier le métabolisme cellulaire et tissulaire à l'aide de l'imagerie hyperspectrale (imagerie vibrationnelle), et des analyses de machine learning (modélisation, et intelligence artificielle). J'ai eu l'honneur de recevoir le prix de biophysique du Japon en 2018 (attribué par la Biophysical Society of Japan, forte de 6000 membres). Je suis également vice-président d'une fondation internationale sur la santé globale et la résilience écologique.

Outils et services autour de la donnée

Esther Dzalé^{*a}, Eric Cahuzac^b, Mikael Loaec^a

^a INRAE DipSO 147 rue de l'université 75 007 Paris

^b INRAE ODR Auzeville 24 chemin de Borde-Rouge - Auzeville CS 52627 31326
CASTANET-TOLOSAN CEDEX

* esther.dzale-yeumo@inrae.fr

Bien que souvent perçue comme une responsabilité supplémentaire et secondaire, le travail scientifique des données est profondément ancré dans les infrastructures de la connaissance¹. Par ailleurs, le numérique en général et les données en particulier constituent un enjeu de compétitivité pour la recherche scientifique et nécessite de tenir compte de plusieurs facteurs dont les enjeux de sécurité, l'évolution des modalités collaboration, des volumétries de données produites, les technologies émergentes. La production de données FAIR² (faciles à trouver, accessibles, interopérables et réutilisables), l'accès à des infrastructures informatiques adaptées (performantes, évolutives, adaptées à la collaboration, résilientes) sont aujourd'hui des leviers importants pour une science plus efficiente et compétitive.

Le but de notre présentation est de dresser un panorama des outils et services disponibles ou en construction à INRAE pour soutenir et faciliter la gestion, le partage et la réutilisation des données scientifiques.



Esther Dzalé Yeumo, Ingénieure de recherche, responsable du pôle Numérique pour la Science, un des quatre pôles de la Direction pour la Science Ouverte (DipSO) de INRAE.

Je suis également membre de la cellule de gouvernance des données de l'établissement.

De formation ingénieure en informatique, j'ai occupé plusieurs fonctions au cours de ma carrière : développeuse d'applications, administratrice de bases de données, cheffe de projet, directrice d'unité.

J'ai contribué à divers chantiers autour de la science ouverte : (1) à l'international avec la RDA où j'ai co-animé le groupe de travail sur l'interopérabilité des données du blé et le groupe d'intérêt IGAD sur les données en agriculture ; (2) au sein de l'INRA, j'ai participé au chantier datapartage, piloté la mise en œuvre de services (site datapartage¹, l'entrepôt Data INRAE, DOI), et contribué à sensibiliser et former à la gestion et au partage des données scientifiques selon les principes FAIR.

¹ Borgman, C. L. (2020). *Qu'est-ce que le travail scientifique des données ? Big data, little data, no data.* Marseille : OpenEdition Press.

² Wilkinson, M.; Dumontier, M.; Aalbersberg, I. et al. The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Sci Data* 3, 160018 (2016). <https://doi.org/10.1038/sdata.2016.18>

Posters



LISTE DES POSTERS

- P1:** Imaging and tracking formins in live *C. elegans* embryos, at single molecule level.
Vlad Costache (*IBPS Sorbonne University, Paris; INRAE MIMA2, Jouy en Josas*)
- P2:** La plateforme MIMA2 (Microscopie et Imagerie des Microorganismes, Animaux et Aliments - INRAE Jouy en Josas), imagerie de l'organisme entier à son ultra-structure.
Pierre Adenot (*INRAE MIMA2, Jouy en Josas*)
- P3:** Etude des mécanismes d'échanges métaboliques entre bactéries et hôte dans un insecte symbiotique par des techniques de microscopie ultrastructurale.
Séverine Balmanda (*Univ Lyon, INSA Lyon, INRAE, BF2I, Villeurbanne*)
- P4:** Imagerie corrélative sur la plateforme BIBS
Angéline D'Orlando (*BIA, INRAE, Nantes*)
- P5:** To Help You Make "Transparisation" an Effective Tool
Romina D'Angelo (*TRI, INRAE, Toulouse*)
- P6:** Toward predicting gene expression and metabolism from label free spectral imaging
Arno Germond (*QuaPA INRAE Theix ; RIKEN, Osaka, Japon*)
- P7:** Etude des remaniements épigénétiques chez l'embryon précoce de bovin à l'aide d'approches corrélative en microscopie optique
Martine Letheule (*Breed INRAE, Jouy en Josas*)
- P8:** Imagerie multispectrale : de la caractérisation du grain de blé à l'évaluation de la qualité des fractions de mouture.
Aurélien Putois (*IATE, Université Montpellier, INRAE, Institut Agro, Montpellier*)
- P9:** Caractérisation de la structure fibreuse de filets et cuisses de canards et dindes après transformation par barattage ou injection d'une marinade
Christine Ravel (*QuaPA INRAE, Theix*)
- P10:** Le dispositif INRAE – SOLEIL
Camille Rivard (*BIA INRAE Nantes, Synchrotron Soleil Gif sur Yvette*)

POSTER N°1

Imaging and tracking formins in live *C. elegans* embryos, at single molecule level.

Vlad Costache^{1,4*}, Serena Prigent Garcia¹, Camille N. Plancke¹, Jing Li², Simon Begnaud¹, Shashi Kumar Suman^{1,3}, Anne-Cécile Reymann³, Taeyoon Kim², François B. Robin¹

1. CNRS UMR7622 and Inserm ERL 1156, Institute for Biology Paris-Seine (IBPS), Sorbonne University, Paris, France. <http://www.cell-dynamics.fr>

2. Weldon School of Biomedical Engineering, Purdue University, West Lafayette, Indiana

3. IGBMC, CNRS UMR7104, Inserm U1258, and Université de Strasbourg, Illkirch, France.

* 4. INRAE MIMA2 Imaging Facility, Jouy-en-Josas, France

vlad.costache@inrae.fr

Proper development and morphogenesis relies on fine-tuned spatial and temporal deployment of forces inside cells. The actomyosin cytoskeleton is determinant for the deployment of these forces and so, for the mechanical properties of embryonic cells and tissues. We investigated on how the actin network is organized during contractility events, such as the pulsed contractions in the two cell stage embryo, and analyzed the processive formin CYK-1 as a proxy.

Formins are responsible for the polymerization of new actin filaments. We used HILO (near-TIRF) live imaging and single molecule automatic tracking of CYK-1::GFP to quantify the anisotropy of the actin network during pulsed contractions. Our results dress up a new model of both spatial and temporal organization of the actin network during cortical pulsed contractions in the *C. elegans* early embryos.



POSTER N°2**La plateforme MIMA2 (Microscopie et Imagerie des Microorganismes, Animaux et Aliments - INRAE Jouy en Josas), imagerie de l'organisme entier à son ultra-structure.**

Pierre Adenot, Vlad Costache*, Julien Deschamps, Valérie Gélin, Martine Letheule, Christine Longin et Christophe Richard

* <https://www6.jouy.inrae.fr/mima2/Presentation-generale>
vlad.costache@inrae.fr

MIMA2 est une plateforme de Microscopie et Imagerie labellisée plate-forme régionale stratégique (OC N ° 35), Ibisa et Infrastructure Scientifique Collective (ISC) INRAE. La plateforme est dédiée à l'analyse des micro-organismes, des animaux vivants ou préparés, tel que les échantillons transparisés ou encore pour des approches corrélatives (optique - électronique). Elle regroupe des équipements complémentaires offrant la possibilité de travailler de l'échelle nanoscopique (MET et MEB FEG LV) à l'animal entier, sur des échantillons vivants ou fixés (confocal et lightsheet) et des pathogènes (niveau P2).

C'est une structure ouverte à tous les scientifiques de l'INRAE, aux utilisateurs externes académiques et privés, localisée sur le campus de Jouy-en-Josas (78) et avec une expertise scientifique pluridisciplinaire : développement de l'embryon et de ses annexes, cardiologie, composition en tissus des mammifères modèles biomédicaux ou d'intérêt agronomique, suivis infectieux dans les petits animaux modèles, les micro-organismes et les matrices alimentaires.



POSTER N°3

Etude des mécanismes d'échanges métaboliques entre bactéries et hôte dans un insecte symbiotique par des techniques de microscopie ultrastructurale.

Séverine Balmanda^a, Meriem Debbache-Ghanem^{*a}, Camille Rivard^b, Sergio Peigner^a, Elisa Dell'Aglio^a, Blanca Soriano-Saiz^a, Mariana Galvao Ferrarini^a, Justin Maire^a, Charline Dalverny^c, Pedro Da Silva^a, Carole Vincent-Monégat^a, Abdelaziz Heddi^{§a} and Anna Zaidman-Rémy^{§a}.

^aUniv Lyon, INSA Lyon, INRAE, BF2I, UMR 203, 69621 Villeurbanne, France.

^bSOLEIL Synchrotron, L'Orme des Merisiers, Gif-sur-Yvette, 91192 Saint-Aubin, France; INRAE, TRANSFORM, 44316 Nantes, France.

^cCentre Technologique des Microstructures, University of Lyon, 5 rue Raphael Dubois, F-69622 Villeurbanne, France.

^{*}meriem.ghanem@insa-lyon.fr

[§] Corresponding authors (Abdelaziz.heddi@insa-lyon.fr, Anna.zaidman@insa-lyon.fr)

Les associations symbiotiques entre insectes et bactéries sont très répandues dans la nature, notamment chez les insectes se nourrissant sur des milieux nutritionnellement déséquilibrés. De 15 à 20 % des insectes développent une symbiose intracellulaire avec des bactéries qui complètent leur régime alimentaire. Le charançon des céréales *Sitophilus oryzae* vit en symbiose avec la bactérie *Sodalis pierantonius* qui complète ses apports nutritionnels. Les bactéries sont localisées dans un organe appelé bactériome, lui-même formé par des cellules spécialisées, les bactériocytes. Une question centrale pour la compréhension de cette symbiose est celle des mécanismes d'échanges métaboliques entre l'hôte et les bactéries. Afin de tenter de répondre à cette question, nous avons caractérisé l'organisation ultrastructurale des bactériocytes avec les bactéries qui y sont localisées, en combinant plusieurs techniques d'imagerie. Récemment, l'utilisation de la méthode de cryofixation à haute pression suivie d'une observation de microscopie électronique à transmission a permis à l'équipe Symbiose et Signalisation Immunitaire du laboratoire BF2I de découvrir des structures membranaires tubulaires autour des bactéries, à l'intérieur des bactériocytes. Des structures similaires ont été décrites chez de nombreuses bactéries libres où elles sont impliquées dans des échanges métaboliques entre bactéries. Les structures que nous observons dans les bactériocytes pourraient donc aussi servir dans les échanges nutritionnels, entre bactéries ou avec l'insecte. Afin d'étudier cette hypothèse, l'équipe a pour objectifs de : 1) caractériser ces structures par des immunomarquages pour localiser des protéines d'intérêt, 2) visualiser ces structures en 3D, à l'aide de la technique serial block face afin d'avoir une vue globale tridimensionnelle sur les bactériocytes, puis à l'aide de la technique FIB-SEM pour une visualisation plus fine du réseau formé par les tubules..3) Déterminer quels sont les métabolites échangés dans ces nanotubes, en utilisant la microspectroscopie C K-edge (STXM : Scanning transmission X-ray microscopy), qui permet d'analyser spatialement la composition en composés carbonés grâce à leurs signatures spectrales. Nous présentons ici le processus d'optimisation que nous avons mis en place pour rendre compatible les protocoles de cryofixation haute pression, d'immunogold, de microscopie électronique 3D, et d'analyse STXM.



POSTER N°4

Imagerie corrélative sur la plateforme BIBS

Angéline D'Orlando^{1*}, David Legland¹, Florent Grélard¹, Mathieu Fanuel¹, Bruno Novales¹, Fabienne Guillon¹, Marie-Françoise Devaux¹, Frederic Jamme²

¹ UR 1268 BIA, INRAE Nantes;

² Synchrotron SOLEIL, DISCO beamline, Gif-sur-Yvette, France

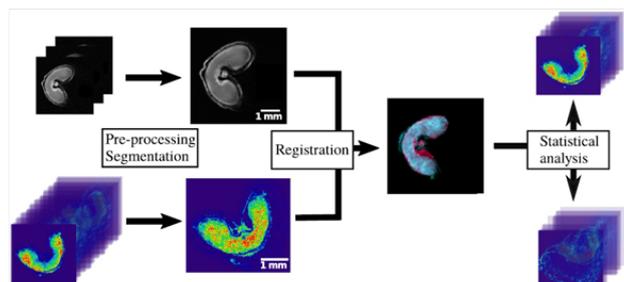
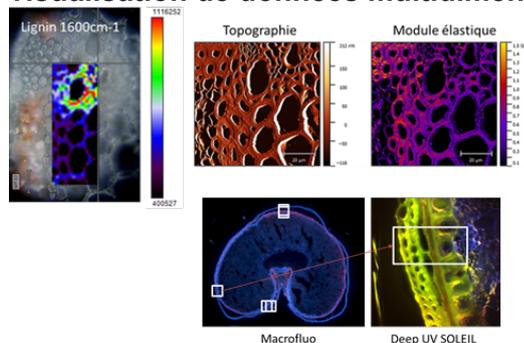
* angelina.dorlando@inrae.fr

La plateforme BIBS (Bioressources : Imagerie, Biochimie & Structure) est dédiée à la **caractérisation physico-chimique multimodale et multi-échelle des bioressources naturelles ou transformées**. Les systèmes biologiques analysés par la plateforme sont des systèmes faits d'assemblages de biopolymères : ce sont généralement des systèmes hydratés ou en milieu liquide, dans lesquels l'eau joue un rôle essentiel sur les structures et les propriétés. Pour mieux estimer les interactions et comprendre l'organisation et la structure de ces objets complexes, il faut pouvoir les imager aux échelles nano et micrométriques et réunir des informations de natures diverses (localisation des structures, identité et structure des biopolymères, état de l'eau, état de surface, force mécanique, évolution sous contrainte, etc).

En matière de modalités d'imagerie, le dispositif de BIBS est très varié : microscopies (Microscopie électronique transmission/balayage environnemental, fluorescence confocale, AFM et Raman), imageries par spectrométrie de masse (MSI) et par RMN (IRM).

L'un de nos objectifs est de coupler les modalités d'acquisition d'images disponibles dans la plateforme pour combiner les informations qu'on en extrait. Nous avons par le passé mené plusieurs types d'expériences couplant des modalités « deux à deux ». L'objectif est d'**aller au-delà des couplages déjà expérimentés**, en combinant notamment AFM-Raman, microscopie de fluorescence, MEB, MSI et IRM. En effet, chacune de ces modalités est en capacité de fournir une information unique et essentielle pour mieux décrire et comprendre les systèmes biosourcés complexes. Par exemple, quel est le lien entre les biopolymères présents (Raman, MSI), structure du tissu (MEB, AFM) et résistance mécanique des parois (AFM) ? Quel est le lien entre distribution de l'eau (IRM) et répartition d'enzymes (fluorescence) et/ou action locale de ces enzymes (MSI) ?

Ces nouveaux couplages de modalités nécessiteront des **développements ciblés en préparation des échantillons** pour l'imagerie ainsi que des développements spécifiques en traitement d'images pour mettre en correspondance spatiale les données d'imagerie obtenues par des modalités différentes. Nous poursuivrons les développements **d'analyses statistiques exploratoires** et de **méthodes de recalage d'images** déjà initiés pour confronter les différentes approches et pour les généraliser à d'autres couples de modalités, notamment d'imagerie microscopique (**analyse multivariée d'images spectrales, visualisation de données multidimensionnelles et multi-blocs**).



POSTER N°5**To Help You Make “Transparisation” an Effective Tool**

Romina D'Angelo (TRI -Toulouse)(coordinatrice du groupe)
David Godefroy (DC2N-Rouen)
Geneviève Conéjéro (MRI-Montpellier)
Laurence Dubreil (APEX UMR703 – Nantes)
François Michel (InMAGIC-Marseille)
Matthieu Simion (TEFOR – Paris-Saclay)
Jeremie Teillon (BIC-Bordeaux)
transparisation@groupes.renater.fr

Our working group aims is to help the community discover the extraordinary potential of "transparisation" techniques and to make clearing less "opaque".We carry out different actions and pay particular attention on subjects and samples transversality (from methodology up to data management; from tissues-organs up to in toto organisms including plants).Our main actions are to :

- establish tutorials ("Beginner's Kit") and " Experts Interactive Map" shared online
- promote, with the participation of recognized specialists in the field, thematic days
- organize training sessions on the Clearing approaches, the use of microscopes and mounting adapted to the type of samples, 3D images processing- inform and discuss about new developments in this field

Practical Sheets and Tutorials

<http://rtmfm.cnrs.fr/documentation/gt-transparisation/>

<https://experts.tefor.net/transparisation/>

<http://rtmfm.cnrs.fr>



Groupe de Travail : Préparation Echantillons

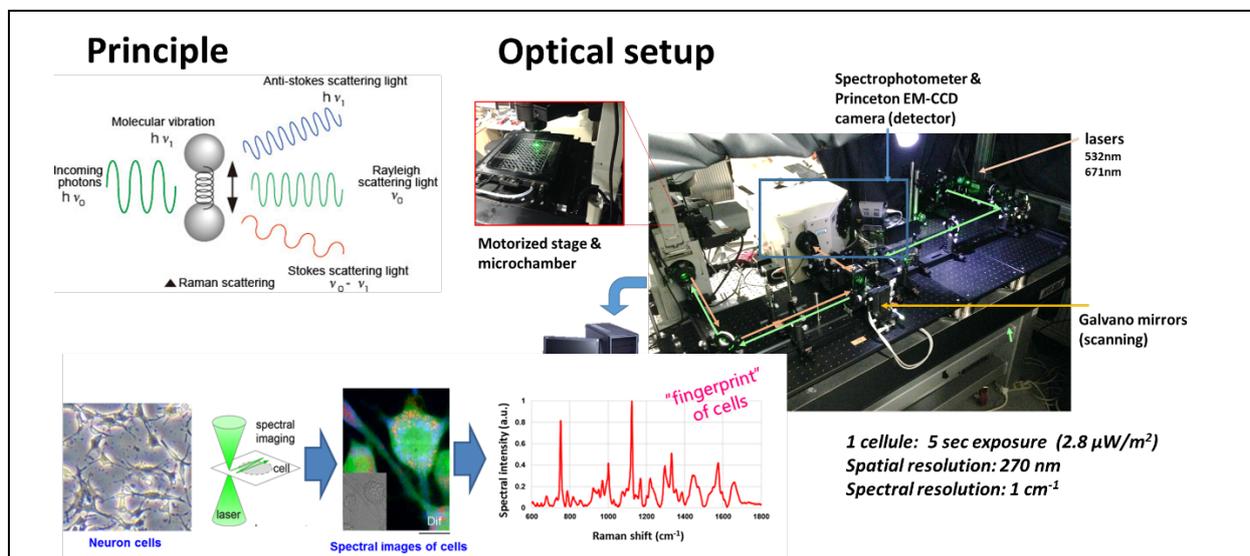
Transparisation

POSTER N°6

Toward predicting gene expression and metabolism from label free spectral imaging

Arno Germond^{1,2*}, V. Kumar², T. Ichimura², C. Furusawa^{1,2}, T.M Watanabe²
¹INRAE, Theix, France ²RIKEN 2-6-3 Furuedai, Suita, Osaka 565-0874, JAPAN
 *arno.germond@gmail.com

Label-free spontaneous Raman spectroscopy is a powerful tool to identify the molecular composition of living cells and detect slow metabolic shifts in living cells. With recent technical improvements of the detectors and optics, vibrational spectral imaging has become a fast and reliable technique. My past researches conducted in Japan aimed at developing a multivariate, predictive model to integrate transcriptomic data with label-free spectral profile of living cells. We used mutant cell lines of *Escherichia coli*, which exhibit few mutations. First, we show the possibility to classify and predict 11 classes of bacteria based on their label-free Raman spectra (fingerprint), obtained from single-cell measurements. We developed a linear regression model to combine label free spectra with transcriptomic data. This model enabled to predict more than 2600 gene expressions from spectral data of unknown *E. coli* cell lines with 81 to 96 % accuracy. Then, major metabolic functions were predicted with cell line specificity. This multi-bloc approach is an important milestone in spectroscopy studies. Finally, this year, at INRAE centre of Theix, I am applying various microscopy techniques, such as vibrational spectral techniques, to predict the metabolic shifts induced by salt exposure on fishes, which information are invaluable for industrial to optimize their processes.



POSTER N°7

Etude des remaniements épigénétiques chez l'embryon précoce de bovin à l'aide d'approches corrélative en microscopie optique

LETHEULE Martine^{*,a}, BONNET Aurélie^b, DELOCHE Marie-Christine^b, LAFFONT Ludivine^a, JAMMES Hélène^a, DURANTHON Véronique^a, KIEFER Hélène^a et BONNET-GARNIER Amélie^a

^{a)} UMR BREED, INRAE, ENVA, Université Paris Saclay, 78350 Jouy en Josas, France.

^{b)} ALLICE

* martine.letheule@inrae.fr

Lors du développement embryonnaire précoce, les génomes parentaux provenant respectivement du spermatozoïde et de l'ovocyte, sont fortement remaniés. Ces remaniements permettent une reprogrammation épigénétique de la chromatine et sont concomitants avec la mise en route de la transcription de l'embryon. Le projet vise à étudier l'impact de l'utilisation de semences de taureau ayant des profils de méthylation différents et un profil de sncRNA contrastés, sur cette reprogrammation épigénétique autour de l'activation majeure du génome embryonnaire (EGA) i.e. au stade 8-cellules. Pour cela nous avons privilégié la détection de modification post traductionnelle d'histone (H3K4me3 et H3K9me3) par immunofluorescence sur embryon *in toto* des stades 2-cellules à Morula. Nous avons à la fois utilisé un microscope confocal pour déterminer la localisation en 3D dans le noyau du signal de fluorescence et sur les mêmes embryons, un microscope photonique équipé d'un module Apotome pour estimer la quantité de fluorescence dans les noyaux. Ces deux approches complémentaires nous ont permis d'acquérir des données quantitatives et qualitatives pour la comparaison de la distribution de ces marques d'épigénétiques entre des taureaux ayant des profils de méthylation et de sncRNA spermatique contrastés.

POSTER N°8

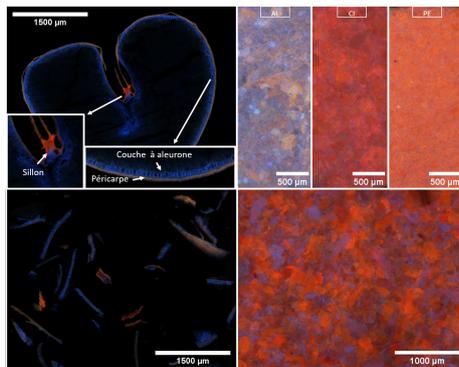
Imagerie multispectrale : de la caractérisation du grain de blé à l'évaluation de la qualité des fractions de mouture.

Putois A.*, Laguna O., Mayer-Laigle C., Barron C.

IATE, Univ Montpellier, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France. * aurelie.putois@inrae.fr

Au cours des procédés de mouture, les grains de blé sont fractionnés à l'échelle tissulaire : l'albumen amylicé est isolé dans les ingrédients type farine/semoule, alors que les tissus les plus périphériques se retrouvent dans les sons. Riches en fibres minéraux et vitamines, ces co-produits peuvent être retravaillés afin d'isoler ces composés d'intérêts qui ne sont pas distribués de manière homogène entre les différents tissus constitutifs. Le suivi de la composition tissulaire pourrait permettre de déduire la composition, et ainsi la qualité nutritionnelle ou les propriétés d'usage de ces fractions, mais également de piloter les procédés de fractionnement. Différentes méthodes ont été proposées, basées entre-autres sur la spécificité de composition des tissus ou de leur réponse spectrale. Ainsi les propriétés spécifiques d'autofluorescence de la couche d'aleurone et du péricarpe sous lumière UV et bleue ont été exploitées pour quantifier la contamination de la farine par les particules de son entier. L'objectif de ce travail était de développer une méthode basée sur des images multispectrales pour évaluer le rapport entre la couche d'aleurone et les autres tissus périphériques dans les fractions de son.

Dans cette étude, un microscope multi-zoom AZ100M (Nikon, Japon) a été équipé de 4 blocs de filtres pour acquérir des images sous lumière d'excitation UV, bleue et verte. La lumière d'émission a été récupérée à travers des filtres passe-haut et, en profitant des canaux RVB de la caméra couleur, chaque image a été divisée en trois canaux et empilée pour obtenir une image multispectrale à 12 canaux. Dans de telles images, les intensités



mesurées pour chaque pixel sont analysées telles des profils spectraux, dont la pertinence pour identifier les tissus a été validée par l'observation de coupes de grains ainsi que des tissus purs isolés manuellement. L'application à l'analyse de poudre a ensuite été développée et optimisée. Afin de faciliter la manipulation des échantillons, d'éviter une forte ségrégation entre les particules et de regarder un grand nombre de particules, des pastilles ont été préparées et 2 à 4 images ont été acquises sur chaque face. Le nombre d'images permettant d'obtenir un profil spectral moyen stable pour la poudre a été déterminé en

fonction de la taille médiane des particules, et une attention particulière a été accordée à l'effet de la préparation de l'échantillon (épaisseur des pastilles, densité, face) sur les profils spectraux moyen mesurés sur la totalité d'un champ de vue. Sur la base des différences dans les propriétés d'autofluorescence sous la lumière d'excitation UV et visible, cette méthode a permis de discriminer les différentes fractions de son, en relation avec la composition du tissu du son.

POSTER N°9

Caractérisation de la structure fibreuse de filets et cuisses de canards et dindes après transformation par barattage ou injection d'une marinade

Christine Ravel*, Thierry Astruc, Annie Vénien

*QuaPA/Imagerie et Transferts, Centre Clermont-Auvergne-Rhône-Alpes** christine.ravel@inrae.fr

La réglementation européenne distingue les « préparations de viandes » qui ont conservé les caractéristiques des viandes fraîches, des « produits à base de viande » dont le procédé de transformation a entraîné une modification à cœur de la structure fibreuse des muscles, faisant disparaître les caractéristiques de la viande fraîche. Le classement dans l'une ou l'autre de ces catégories impose aux industriels des contraintes sanitaires différentes. Notre objectif est de caractériser la structure fibreuse de muscles de canards après barattage dans une marinade ou après injection multiple de marinade dans des filets et cuisses de dindes par une analyse histologique des fibres musculaires.

Les résultats indiquent que la marinade s'est infiltrée préférentiellement dans le périmysium et les espaces extracellulaires (EEC), la morphologie des fibres proches des trames conjonctives ne semble pas impactée et les fibres se distinguent les unes des autres. Quel que soit le muscle considéré, la marinade n'a pas d'effet notable sur la structure des fibres. Cependant, pour les canards comme pour les dindes, la structure interne des fibres (myofibrilles) semble avoir subi des modifications. Une analyse ultrastructurale en microscopie électronique permettrait d'apprécier l'évolution de la structure fibreuse des myofibrilles.

Des investigations en microspectroscopie FT-IR sont en cours pour acquérir des informations sur le niveau de dénaturation des protéines intracellulaires et celles de la matrice extracellulaire.



POSTER N°10

Le dispositif INRAE - SOLEILCamille Rivard^{*a,b}, Alexandre Giuliani^{a,b}, Denis Renard^c^a TRANSFORM, INRAE, Nantes, France^b Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Saint-Aubin, Gif-sur-Yvette, France^c BIA (Biopolymères Interactions Assemblages), INRAE, Nantes, France* camille.rivard@synchrotron-soleil.fr

SOLEIL est le centre français de rayonnement synchrotron, situé sur le plateau de Saclay dans l'Essonne. Cette très grande infrastructure de recherche est un instrument pluridisciplinaire ainsi qu'un laboratoire de recherche. SOLEIL a pour mission de conduire des programmes de recherche en utilisant le rayonnement synchrotron, de développer une instrumentation de pointe sur les lignes de lumière et de mettre celles-ci à la disposition de la communauté scientifique. Le synchrotron SOLEIL est utilisé annuellement par plusieurs milliers de chercheurs français et étrangers, à travers un large éventail de disciplines telles que la physique, la biologie, la chimie, l'astrophysique, l'environnement, les sciences de la terre, etc. SOLEIL s'appuie sur une source de rayonnement remarquable à la fois en termes de brillance et de stabilité couvrant la gamme des infrarouges, des ultraviolets et des rayons X.

Depuis 2006, l'INRAE a mis en place le dispositif INRAE-SOLEIL pour optimiser son accès au synchrotron SOLEIL. Ce dispositif est constitué d'ingénieurs INRAE mis à disposition auprès de SOLEIL, d'un coordinateur scientifique et d'un conseil scientifique d'utilisateur INRAE et peut être contacté à l'adresse suivante : inrae-soleil@synchrotron-soleil.fr.

Les principales missions du dispositif INRAE-SOLEIL sont de promouvoir et faciliter l'utilisation du synchrotron SOLEIL aux équipes de recherche des laboratoires INRAE en apportant une aide au montage et à la rédaction des projets de demande d'accès à SOLEIL, en relisant les projets avant soumission, en développement des environnements échantillons, en aidant à la préparation des échantillons et en accueillant et/ou accompagnant les équipes de recherches sur les lignes de lumière ainsi qu'en proposant des formations au traitement des données.

Ce poster présente ces différents points ainsi que quelques résultats obtenus sur les lignes de lumière de SOLEIL.

