



Société Française des Microscopies

Lettre d'information

N°19 : Novembre 2021

Sommaire

- Mot de la présidente
- Retour des stages M2 financés par la Sfμ
- Agenda
- Offres d'emploi
- Elections

Mot de la présidente

Chères et chers microscopistes,

Dans ce numéro, nous présentons les travaux de quatre étudiants qui ont bénéficié du financement de la Sfμ pour les stages de Master 2 SdV lors de l'année universitaire 2020-2021. Chacun présente des travaux originaux et de grande qualité qui, pour certains, seront poursuivis en thèse. Les travaux de Master 2 en SdM feront l'objet d'une prochaine publication. Le soutien et la formation des jeunes scientifiques sont des priorités à la Sfμ. Tous les ans, la Sfμ lance un appel à projet pour bénéficier d'un financement. Cette initiative remporte un énorme succès auprès de nos adhérents. Le bilan financier de la Sfμ le permettant, nous avons décidé de nouveau d'attribuer huit bourses de stage pour l'année universitaire 2021-2022, quatre dans le domaine des Sciences de la Vie (SdV) et quatre dans le domaine des Sciences de la Matière (SdM). Comme tous les ans nous avons reçu de nombreuses demandes de financement de grande qualité. Nous avons hâte de lire les résultats obtenus lors d'une prochaine newsletter.

Pour rappel, les conditions d'attribution sont les suivantes :

- Les bourses sont attribuées pour des projets de recherche utilisant une microscopie comme technique principale.

- Le maître de stage qui dépose la demande doit être adhérent à la Sfμ.

- Les lauréats de ces bourses, ainsi que leur maître de stage, s'engagent à remercier la Sfμ dans leur mémoire et dans les présentations orales liées au travail effectué pendant le stage. Ils fourniront également une copie du rapport de stage à l'issue de celui-ci.

Nous pensons dès à présent à l'avenir et particulièrement à notre prochain colloque Sfμ de 2023. Nous avons reçu cinq candidatures, ce qui démontre le dynamisme de nos adhérents, et l'envie de nous retrouver « pour de vrai » en présentiel. Nous avons sélectionné la proposition de l'équipe de Williams Lefebvre et le colloque se tiendra à Rouen la semaine du 4 Juillet 2023.

Merci de noter dès à présent les dates.

En attendant de nous retrouver bientôt, nous l'espérons, lors de colloques ou manifestations, nous vous laissons à la lecture de cette lettre, en remerciant leurs auteurs pour leur dynamisme et implication dans la vie de notre société. Nous vous rappelons aussi qu'une première annonce des élections pour renouveler le bureau et le conseil a également été faite (d'autres viendront !). Si vous souhaitez participer à la vie de votre Société, n'hésitez pas à déclarer votre candidature : deux sièges SdV seront à renouveler pour l'année prochaine.

Très cordialement,

Catherine Vénien-Bryan, Présidente Sfμ (2020-2021)

Lettre d'information

Flora BUNGA
Université de Nantes
 Stage au laboratoire de
 Physiopathologie Animale et
 bioThérapie du muscle et du système
 nerveux (PANTher)
Encadrement : Karl Rouger

- Microscopie confocale



Zakaria DAHMANI
Université de Paris
 Stage à l'Institut Parisien de Chimie
 Moléculaire (IPCM)
Encadrement : Matthieu Sollogoub

- cryo EM
- pre-doc au Department of computational and System Biology with Prof. Yvet Bahar. University of Pittsburgh, School of Medicine

Valentine Espérance AHO
Université de Bordeaux
 Stage à l'Institut Européen de Chimie
 et Biologie
Encadrement : Mikayel Aznauryan

- Microscopie confocale

Hugo TERRASSON
Université de Poitiers
 Stage au laboratoire d'Écologie et
 Biologie des Interactions (EBI)
Encadrement : Christine Braquart-Varnier, Maryline Raimond et Émile Bere

- microscope 3D - méthode de Serial Block-Face Scanning Electron Microscopy (SBFSEM)
- Poursuite en thèse à l'INSA de Lyon

Stages M2 en SdV financés par la Sfmu en 2021

- **Hugo TERRASSON** - Master 2 Biodiversité, Écologie, Évolution (BEE) (parcours Écologie, Évolution) de l'Université de Poitiers



Encadrement : Christine Braquart-Varnier, Maryline Raimond et Émile Bere

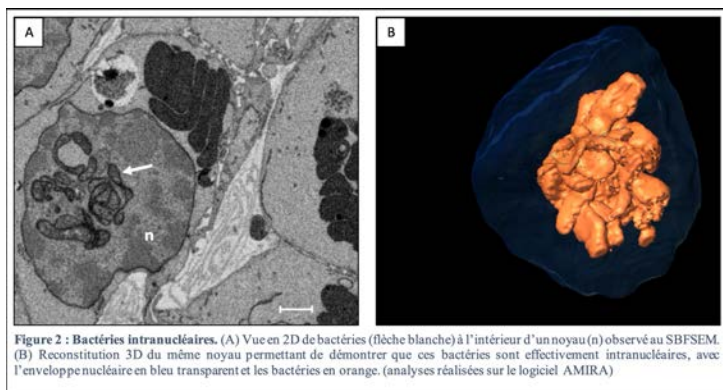
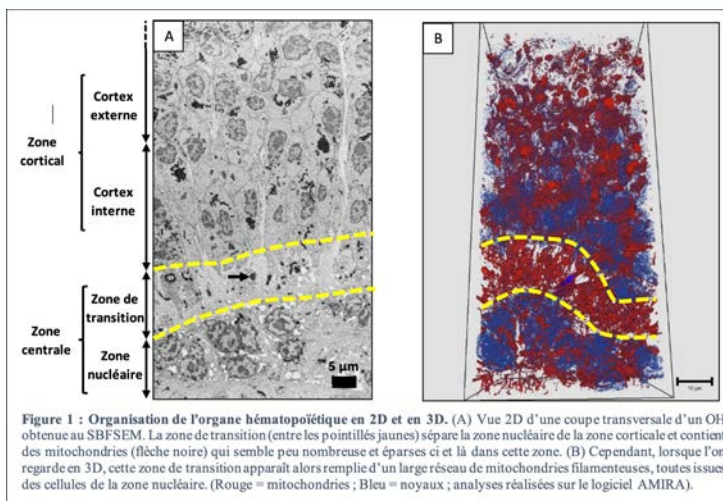
Le stage consistait à caractériser l'ultrastructure des organes hématopoïétiques d'*Armadillidium vulgare* (crustacés, isopodes terrestres) infectés par *Wolbachia* en microscopie 3D. Pour cela, des organes hématopoïétiques (OH) d'*Armadillidium vulgare* ont été disséqués et préparés chimiquement selon un protocole « blockface » adapté aux isopodes terrestres. D'une part, des échantillons ont été observés au microscope électronique à transmission (JEOL JEM 1010™) et d'autre part, des échantillons ont été observés au microscope 3D selon la méthode de Serial Block-Face Scanning Electron Microscopy (SBF-SEM ; Teneo Volumescape™ de ThermoFisher Scientific). Les analyses 3D ont été effectuées à partir du logiciel AMIRA.

Ces observations nous ont permis de compléter la caractérisation des OH chez cette espèce avec une précision jamais atteinte jusqu'alors, en révélant des agencements tridimensionnels insoupçonnés et insoupçonnables en observation 2D. La figure 1A montre une coupe transversale d'une partie d'un OH révélant son organisation. La figure 1B montre la reconstitution 3D du même OH, révélant la présence d'un large réseau de mitochondries allongées issues des cellules de la partie centrale de l'OH. Ces structures mitochondriales surprenantes pourraient apporter un rendement énergétique important et pourraient participer à la migration des cellules de la zone centrale proliférative vers la zone corticale de différenciation de cet organe producteur des cellules immunitaires circulantes.

Ces observations ont également permis de révéler la présence de bactéries à l'intérieur des noyaux de certaines cellules. Nous avons pu reconstituer en 3D un de ces noyaux infectés permettant de démontrer que ces bactéries sont effectivement intranucléaires (Figure 2). Malgré 30 ans d'observations des OH d'*A. vulgare* au microscope électronique à transmission réalisées par les chercheurs et ingénieurs de l'équipe EES avant ce stage, un tel événement n'a jamais été observé, démontrant l'apport du SBF-SEM. De plus, le phénotype de ces

Lettre d'information

bactéries intranucléaires correspond au phénotype des *Wolbachia* que l'on retrouve habituellement dans le cytoplasme des cellules. Or, à notre connaissance, aucune étude ne démontre la présence de *Wolbachia* intranucléaires. Si des études supplémentaires confirment qu'il s'agit bien de *Wolbachia*, cela serait une première mondiale pour cette bactérie qui est associée à de très nombreux arthropodes (dont plus de 66% des insectes).



- **Valentine Espérance AHO** - Master de Biochimie Biologie Moléculaire de l'Université de Bordeaux

Le projet du stage portait, sur l'étude *in vitro* de la conformation et des interactions du facteur d'initiation de la traduction 4B (eIF4B), une protéine intrinsèquement désordonnée (IDP), par la méthode FRET à molécule unique (smFRET) par l'utilisation d'un microscope confocal. Le but est de comprendre le

mécanisme moléculaire gouvernant le rôle de eIF4B durant l'initiation de la traduction, l'étape clé de ce processus (Shahbazian *et al.* 2010). Connue pour interagir avec des cofacteurs et l'ARN messager lors de la traduction, sa forte expression est associée à la prolifération et la survie des cellules cancéreuses. Cette étude pourrait déboucher sur une thérapie ciblée de cette protéine dans les traitements anti-cancéreux.

Basé sur le transfert d'énergie non radiative entre deux fluorophores (donneur et accepteur), dont l'efficacité est dépendante de la distance entre les deux fluorophores, le smFRET, permet de résoudre la dynamique conformationnelle des protéines et d'étudier leur interaction moléculaire en corrélant distance et efficacité de FRET (Lerner *et al.* 2021).

A cet effet, un variant protéique a été produit comprenant le domaine C-terminal de la protéine incluant la région " Arginines Rich Motif (ARM) " connue pour interagir avec l'ARN messager lors de la traduction et marqué avec deux fluorophores suivant la chimie du maléimide. Une mutation phosphomimétique mimant la phosphorylation de la sérine 422 (eIF4B-CTR-S422E) associée à l'activité de eIF4B pendant la traduction (Raught *et al.* 2004, Shahbazian *et al.* 2010) a été incluse en vue d'avoir un aperçu de l'activité moléculaire de la protéine *in vitro*. L'acquisition de données de fluorescence en molécule unique a été effectuée à l'aide d'un microscope confocal MicroTime 200 équipé d'un module de comptage HydraHarp 400 (PicoQuant) et d'un objectif Olympus UplanApo 60x/1.20W, suivant le protocole classique d'acquisition pour une expérience smFRET (Aznauryan *et al.* 2016).

Comme résultats pertinents, nous avons observé que la conformation de cette protéine intrinsèquement désordonnée, eIF4B-CTR-S422E, subit deux tendances opposées dépendantes des interactions électrostatiques. Une expansion de la protéine lors de l'augmentation de la force ionique est observée par la diminution de l'efficacité du FRET, E, (voir Figure) et une compaction conformationnelle en présence d'ARN par l'augmentation de l'efficacité de FRET (voir Figure). De plus, le variant phosphomuté montre une diminution de l'affinité pour l'ARN comparé au variant non phosphomuté, malgré une conformation similaire, ce qui met évidence un effet négatif de la phosphomutation sur l'interaction de la protéine et l'ARN (voir Figure).

Ces observations ont permis de mettre en évidence la complexité du mécanisme moléculaire et la dynamique

Lettre d'information

conformationnelle impliqués dans la fonction de la protéine eIF4B durant la traduction. De plus, la confirmation de l'affinité observée par des expériences supplémentaires pourrait révéler l'importance de la phosphorylation sur l'activité de la protéine lors de la traduction malgré une faible affinité à l'ARN.

Par ailleurs, ce projet a permis de mettre en relief la grande sensibilité et la capacité du smFRET à résoudre l'interaction moléculaire et la dynamique conformationnelle liée à la fonction de protéines telles que les IDPs.

- **Zakaria DAHMANI** - Master 2 Bio-informatique, Parcours In Silico Drug Design Université de Paris



Encadrement : Matthieu Sollogoub

La Nature utilise des assemblages supramoléculaires hiérarchiques de protéines pour construire de belles architectures telles que des microtubules, des canaux, des machines moléculaires (ATP synthase), des ribosomes... pour les fonctions cellulaires ou des virus hélicoïdaux, icosaédriques qui perturbent les cellules hôtes. Ces assemblages sont totalement homogènes en forme et en taille. Jusqu'à présent, il était impossible d'imiter une telle construction avec des molécules artificielles (non biologiques ou abiotiques). Le contrôle de l'assemblage de petites molécules sur mesure en architectures prévisibles, monodisperses, à l'échelle du nanomètre ou du micromètre, en milieu aqueux, est un défi fantastique pour le scientifique moléculaire !

Le projet de recherche était de déterminer la structure par cryo-EM d'un virus artificiel composé de cyclodextrine auto-assemblante et d'ADN. L'analyse d'images devrait permettre ensuite d'avoir une description fine de l'interaction entre tous les composants et de comprendre l'architecture moléculaire de cette construction supramoléculaire abiotique. La perspective de ce projet est thérapeutique. L'assemblage avec lequel nous proposons de travailler a été testé avec succès pour l'administration et la transfection de gènes.

Les assemblages ont été préparés dans un premier temps dans l'équipe d'accueil, puis des images ont été enregistrées sur un microscope performant, TEM 300kV Titan Krios (Institut Pasteur) équipé d'une caméra à détection directe d'électrons.

Les fibres sont facilement visibles sur les images cryo-EM (Figure) et se prêtent à l'analyse d'images. Un protocole a été établi. 11000 images ont été collectées, triées et les fibres ont été analysées avec le logiciel RELION. Les fibres ont été fenêtrées dans un ensemble de boîtes, suivi par une classification 2D. Un modèle préliminaire 3D a été calculé.

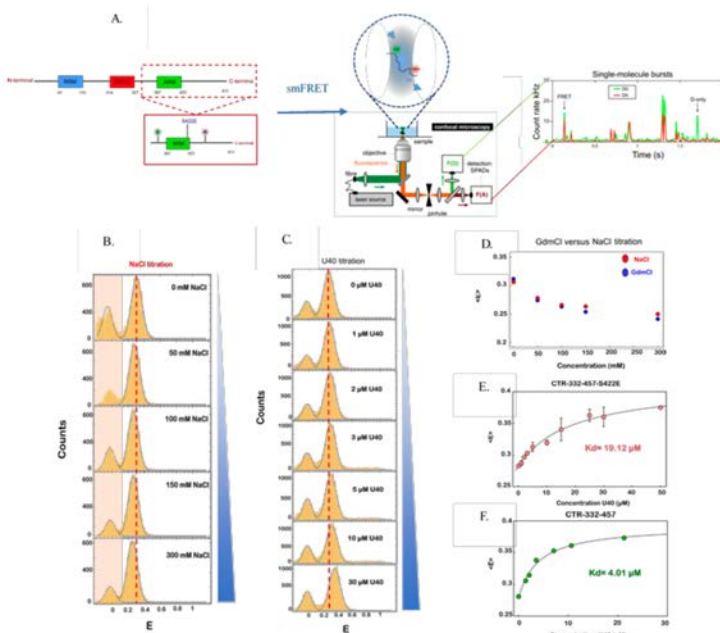
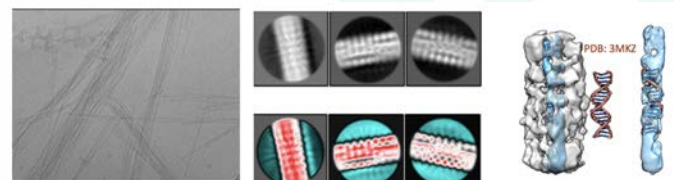


Figure : A : (Gauche) Représentation schématique de la protéine humaine eIF4B. La région ARM (riche en arginines) en C-terminal connu pour interagir avec l'ARN messager. Le variant produit par mutagenèse incluant la région ARM du domaine C-terminal avec deux sites de marquage de fluorophores en position 332 et 457 (encadré en rouge). (Milieu) Principe de l'expérience smFRET sur molécules à diffusion libre. La fluorescence émise après excitation de fluorophores est recueillie sur des détecteurs correspondant à chaque fluorophore suivant leur longueur d'ondes d'émission. (Droite) Exemple typique de mesure confocale de smFRET montrant les bursts de photons provenant de la diffusion confocale pendant l'expérience. Chaque burst détecté en fonction du temps (vert pour le donneur et rouge pour l'accepteur) contient le nombre correspondant de photons émis servant à déterminer l'efficacité de FRET. L'observation simultanée de bursts du donneur et de l'accepteur est synonyme de FRET. B et D : Effet de screening de charges sur la conformation de eIF4B. Histogrammes montrant la distribution d'efficacité de FRET de chaque molécule observée et ajuster avec une Gaussienne pour extraire l'efficacité <E> moyen propre à chaque sous-population de FRET. La partie colorée en rose clair correspond aux molécules sans FRET observé avec une efficacité proche de zéro. La population avec une valeur d'efficacité supérieure à zéro correspond à la population d'intérêt. Diminution de l'efficacité de FRET E vers une plus faible valeur de E avec l'augmentation de la concentration en NaCl (B). Le même effet est observé pour la titration avec le chlorure de guanidine (D). L'efficacité de FRET étant relié à la distance des fluorophores, cette diminution observée suggère une expansion de la protéine en présence de ces solvants. C, E et F : Interaction de eIF4B et l'ARN. Un ARN 40-mer poly-uridine (U40) est utilisé pour la titration de la protéine et de l'ARN. L'augmentation de la concentration conduit à une augmentation de l'efficacité de FRET (C) suggérant à une compaction de la protéine en présence d'ARN. Le variant phosphomimétique (eIF4B-CTR-S422E) (E) présente une affinité faible pour l'ARN comparé avec une constante de dissociation 5 fois élevé à celui non phosphomimétique (eIF4B-CTR).



Lettre d'information

- **Flora BUNGA** – Master 2 Sciences Du Médicament
« Parcours Biothérapies & Médicaments de
Thérapie Innovante » - Université de Nantes

UMR 703 PAnTher Encadrement : Karl Rouger et
Laurence Dubreil

Les stratégies de thérapie cellulaire se sont multipliées ces dernières années dans le domaine de la médecine régénérative des affections musculaires avec l'identification des cellules souches au sein de tissus adultes et la caractérisation de leurs potentialités de réparation tissulaire. Un intérêt croissant a récemment été porté sur de nouvelles générations de sondes fluorescentes à base de chaînes de polymères hydrosolubles qui ont le double avantage d'être très lumineuses et compatibles avec les méthodes de clarification pour suivre les cellules marquées dans des échantillons épais.

Le travail du stage a eu pour objet de mettre au point des outils performants de marquage cellulaire pour être en capacité d'explorer *in vitro* mais aussi *in vivo* la nature des interactions mises en place entre le précurseur myogénique naturel qu'est le myoblaste et une cellule souche adulte dérivée du muscle positionnée comme candidate à la thérapie cellulaire des myopathies, la cellule MuStem. Un potentiel de réparation musculaire intéressant a en effet été démontré pour la cellule MuStem dans un contexte de dystrophie musculaire et d'infarctus du myocarde par une contribution directe à former de nouvelles fibres, à fusionner avec les fibres endommagées ou encore à générer des cellules de réserve. Pour cela, les propriétés de sept différentes sondes de type polymère fluorescent et nanoparticule développées par l'UMR 5223 CNRS IMP ont été explorées pour le marquage cellulaire *in vitro* imagé en microscopie confocale spectrale sur l'UMR 0703 INRAE/Oniris. Spécifiquement, l'impact du marquage des cellules par les sondes sur la viabilité et la prolifération cellulaire a permis de définir un couple de sondes non cytotoxique sans aucune conséquence délétère significative sur la

viabilité et la dynamique cyclique comme proliférative des cellules MuStem et des myoblastes. La mise en place de co-cultures de cellules MuStem marquées avec la sonde 19K6H (émission de fluorescence dans le rouge lointain) et les myoblastes marqués avec la sonde POG-5AMMO (émission de fluorescence dans le vert) a permis de visualiser la distribution des deux types cellulaires au sein des co-cultures et d'observer pour la 1ère fois des événements de fusion entre les deux types cellulaires (Figure 1). Ces résultats sont encourageants pour les études *in vivo* à venir sur i) la définition de la biodistribution des cellules MuStem administrées, et ii) les interactions potentielles qu'elles développent avec les myoblastes, dans un objectif finalisé d'accroître l'efficacité de la transplantation des cellules MuStem dans des différents contextes de lésions musculaires.

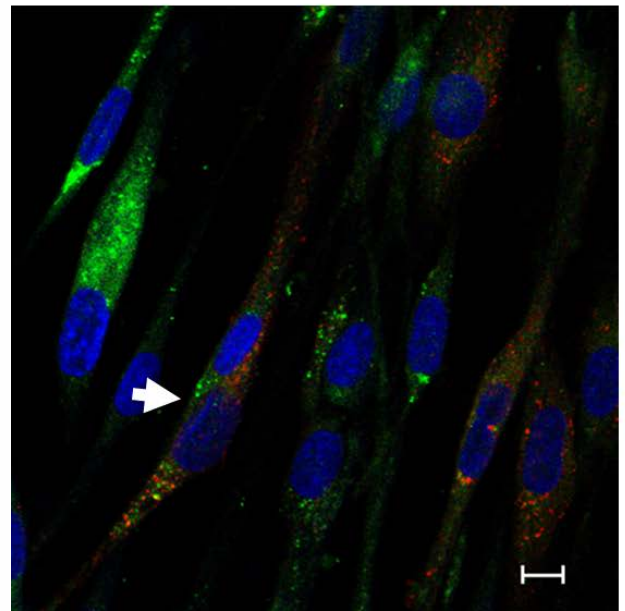


Figure 1 : co-culture des cellules hMuStem-19K-6H et des myoblastes-60K-POG-5AMMO. Observation d'évènement de fusion entre les deux types cellulaires (flèche). Barre d'échelle : 10 μ m



Société Française des Microscopies

Lettre d'information

Parution d'un ouvrage sur « Diffusion, ségrégation et transformations de phase à l'état solide »



Ce livre s'adresse aux enseignants et aux étudiants de licence et master mais également aux élèves ingénieurs et doctorants. Il rassemble un ensemble de problèmes résolus portant sur la thermodynamique des transformations de phases, la diffusion et les cinétiques dans les alliages. Ces problèmes, précédés d'un rappel de cours, sont suivis de corrigés détaillant chaque étape des calculs. Les sujets traités (précipitation, mise en ordre, ségrégation sur les défauts cristallins, croissance d'un film mince, oxydation, fluage, dopage des semiconducteurs...) sont essentiels pour la conception des matériaux et l'optimisation des traitements thermiques et propriétés qu'il s'agisse de matériaux de structure (aciers, alliages à base Ni, Al, Cu, Ti...) ou fonctionnels (semiconducteurs, alliages et multicouches magnétiques...). Ils débouchent souvent sur une problématique industrielle (aéronautique, centrales nucléaires, microélectronique...).

Agenda

Conférences/formations/ateliers

Voici une liste d'événements soutenus par la Sfmu, à venir dans les prochains mois.

Conférences / Formations / Ateliers	Lieu	Dates
9 ^{ème} Edition de MiFoBio	Hyères	5 -12 nov. 2021
10 ^{èmes} JST du réseau des microscopistes de l'INRAE "Explorer les tissus par l'image"	Tours	24-26 nov. 2021

Ecole biophysique structurale	Pessac	5 - 10 dec. 2021
Journées GdR Approches quantitatives du vivant	Paris	19 -21 jan. 2022
Quantitative Electron Microscopy (QEM)	Port Barcares	8-20 mai 2022
Ecole de Biologie Structurale Intégrative ReNaFoBis 2022	Oléron	17 - 24 juin 2022
Ecole E-Beam	Porquerolles	sept. 2022

Voici également une liste d'autres événements en lien avec les microscopies, dont certains ont aussi été décalés.

Conférences / Formations / Ateliers	Lieu	Dates
Conférence internationale de Microscopie	Busan, Corée du Sud	10-15 sept. 2023

Offres d'emploi

Les offres d'emploi sont consultables sur la page web <https://sfmu.fr/fr/emploi/offres>.

Adhésions à la Sfmu

L'adhésion à la Sfmu (et son renouvellement) est possible à tout moment. La cotisation est modeste (tarif normal 50€, 25€ pour les doctorants et non-permanents). Elle inclut également l'adhésion à l'EMS (Société Européenne des Microscopies).

Elle est essentielle pour le fonctionnement de la Sfmu (secrétariat, gestion financière...) et ses actions (bourses de colloques, de Master, subventions pour les colloques et écoles, organisation des colloques Sfmu, de ses formations...). Le nombre de membres actifs est un élément important pour sa représentation sur la scène internationale, en particulier au sein de l'EMS.

Pour plus de facilité, plusieurs formules sont possibles : cotisation individuelle, groupée ou laboratoire, étudiant ou permanent etc... Le paiement peut se faire soit par chèque, soit par bon de commande, soit directement par carte bancaire sur notre site : <https://sfmu.fr/>

Elections

La Société Française des Microscopies lance un APPEL à CANDIDATURE pour le renouvellement partiel de son conseil d'administration. Celui-ci est composé de biologistes, chimistes et physiciens utilisant ou développant les techniques de microscopie (tous les



Société Française des Microscopies

Lettre d'information

types de microscopie sont les bienvenus). Il se réunit 3 à 4 fois par an.

Cette année, deux sièges en sciences de la vie (SdV) sont à pourvoir dans le conseil, en remplacement de Sylvain Trépout qui finit son mandat cette année et Jean-Marc Verbavatz qui est proposé comme Secrétaire Général SDV.

Merci d'adresser votre candidature par mail à Catherine Vénien-Bryan (catherine.venien-bryan@upmc.fr) et Suzanne Giorgio (giorgio@cinam.univ-mrs.fr) en joignant un résumé de vos activités d'une demie page et en précisant les éléments suivants :

- Nom, prénom, année de naissance, fonction
- Coordonnées professionnelles complètes (adresse, téléphone...)
- Cinq à dix mots clés définissant vos thèmes de recherche

La date limite de réception des candidatures : le 22 novembre 2021.

Les élections se tiendront du **26 Novembre au 17 Décembre**.

Composition du conseil de la Sfmu 2021

(16 membres, dont 8 au bureau)

Présidente SDV : Catherine Vénien-Bryan, Paris (2020-2021)

Vice-Présidente SDM : Suzanne Giorgio, Aix-Marseille (2021-2022)

Secrétaire Générale SDM : Bénédicte Warot-Fonrose, Toulouse (2021-2023)

Secrétaire Général SDV : Frédéric Coquelle, Orsay (2019-2021)

Secrétaire SDM : Matthieu Bugnet, Villeurbanne (2021-2023)

Secrétaire SDV : Laurence Dubreil, Nantes (2019-2021)

Trésorière : Ilse Hurbain, Paris (2020-2021)

Trésorière adjointe : Claire Boulogne, Gif-sur-Yvette (2020-2021)

Membre SDM : Marta de Frutos, Orsay (2020-2022)

Membre SDM : Martin Hÿtch, Toulouse (2020-2022)

Membre SDM : Martien den Hertog, Grenoble (2021-2023)

Membre SDM : Erwan Oliviero, Montpellier (2021-2023)

Membre SDV : Sylvain Trépout, Orsay (2019-2021)

Membre SDV : Jean-Marc Verbavatz, Paris (2020-2022)

Membre SDV : Cécile Formosa, Toulouse (2021-2023)

Administrateur : Jean-Pierre Lechaire, Paris

Responsable de la publication : Catherine Vénien-Bryan, présidente de la Sfmu

Rédaction : Bénédicte Warot-Fonrose, Catherine Vénien-Bryan