

Observer c'est connaître, mesurer c'est comprendre

La plateforme TRI (Toulouse Réseau Imagerie) a pour objectif la visualisation des fonctions biologiques, de l'échelle nanométrique à l'organisme entier. Elle présente 3 champs de compétences, la microscopie photonique, la microscopie électronique et la cytométrie et tri cellulaire. Elle fédère les plateaux d'imagerie de sept sites de recherche Toulousains. Elle accueille annuellement 800 chercheurs et étudiants appartenant à 180 équipes de recherche, dont plus de 17 laboratoires privés.

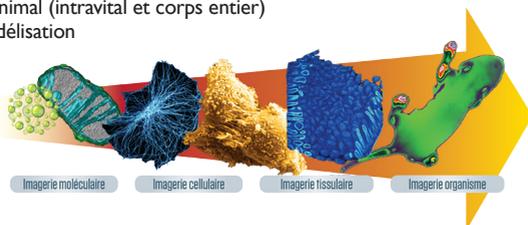
Les domaines d'expertises de la plateforme TRI dans les techniques de pointe en imagerie et en cytométrie-tri cellulaire sont :

- La biologie animale : depuis la bactérie et la levure jusqu'à l'homme, en passant par les insectes (drosophile, abeille), le poisson, l'amphibien, le poulet, la souris, le rat, le mouton, le singe.
- La biologie végétale : plantes, champignons et bactéries (en particulier interactions plante-microorganismes, développement).

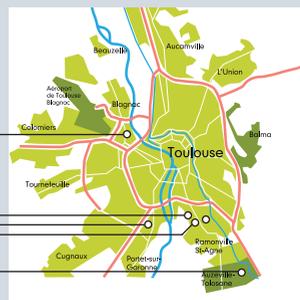
Pour tous ces modèles, les observations sont réalisées sur des cultures cellulaires, des préparations tissulaires, des embryons, des organes entiers, l'animal entier ou encore des plantules.

37 personnels dédiés (ingénieurs et techniciens) mettent en œuvre leurs compétences et expertises sur des technologies extrêmement vastes et de très haut niveau couvrant les domaines de :

- L'imagerie cellulaire & tissulaire in-vivo (16 confocaux, 5 multiphotons, 1 système de pinces optiques, 17 champ large, 2 SPIM, 1 macroSPIM, 3 macroflujo)
- La microscopie à super-résolution (STED, SIM, STORM/PALM, TIRF)
- La cytométrie, l'imagerie moyen & haut débit (12 cytomètres, 3 trieurs, 1 cyto-imageur, 4 scanners de lames, 1 système HCS)
- La microscopie électronique à transmission et à balayage ; les cryométhodes (3 MET dont 1 tomographique et 1 en perte d'énergie, 1 MEB FEG HR)
- La microscopie à force atomique (2 AFM bio)
- L'imagerie des interactions moléculaires (1 multi et 1 mono-photons-FLIM, 2 streak-FLIM)
- L'imagerie du petit animal (intravital et corps entier)
- Le traitement & modélisation



Localisation des équipements



Responsable scientifique :
Olivier Gadal

Responsable opérationnel :
Jacques Rouquette

Contact :
tricontact@genotoul.fr

Site web :
<http://trigenotoul.com>

SFR BMT Purpan
(CPTP)

SFR BMT Rangueil
(I2MC)

SFR BMT ITAV / Ctr.
P. Potier

FRBT Sites IPBS et CBI

FR Agrobiosciences

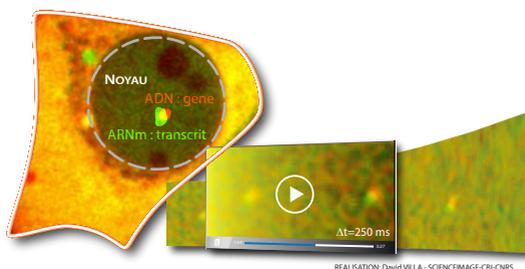
Le fait marquant scientifique :

La transcription freine la mobilité d'un gène unique

L'organisation du génome humain dans le noyau joue un rôle essentiel dans la régulation de son expression. Une équipe de chercheurs du Centre de Biologie Intégrative de Toulouse (CNRS / Université Toulouse III – Paul Sabatier) a récemment réussi à optimiser une technique d'étiquetage de l'ADN appelée ANCHOR, leur permettant de suivre pour la première fois, la dynamique d'un gène isolé en cellules humaines en temps réel.

La technique d'étiquetage ANCHOR profite du système de ségrégation des chromosomes bactérien ParB/parS. ANCH est une séquence d'ADN courte comprenant des sites parS spécifiquement reconnus par la protéine ParB/OR. ANCH peut être insérée à proximité immédiate d'un gène cible dans les cellules humaines. Il est alors possible de localiser précisément le gène d'intérêt par simple transfection de protéines OR fluorescentes. Le système ANCHOR, breveté par l'équipe s'adapte à tout type de cellules eucaryotes et offre des nombreuses applications pour l'analyse des fonctions du génome.

Le système ANCHOR, combiné au système MS2/MCP (permettant l'étiquetage de l'ARN messager par un mécanisme similaire), a permis de décrire les mouvements du gène étiqueté, avant et après activation de la transcription dans la même cellule. Le comportement dynamique du gène, marqué par une protéine fluorescente rouge, a pu être analysé en conditions physiologiques par vidéo-microscopie, et la stimulation de son activité transcriptionnelle par l'estradiol, contrôlée par l'apparition d'ARN messager quant à lui marqué par une protéine fluorescente verte.



Les résultats de l'analyse quantitative de ces travaux, publiés dans *Biophysical Journal*, révèlent que le mouvement du gène se trouve confiné, quelques minutes à peine après l'initiation de la transcription. Le mouvement du gène est freiné dès son activation par l'ARN polymérase II et le recrutement concomitant de nombreux cofacteurs. La forme active de la polymérase est connue pour s'établir en amas plutôt statiques, ce qui est parfaitement cohérent avec l'idée que le gène soit enfermé dans une cage de protéines lors de sa transcription. À l'intérieur de cette cage, le gène a plus de chance d'entrer en contact avec ses éléments régulateurs. À terme, ceci pourrait composer la signature d'un gène actif et permettre le criblage de nouvelles molécules pharmacologiques agissant sur la transcription.

PUBLICATION ET VALORISATION

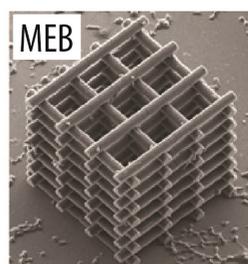
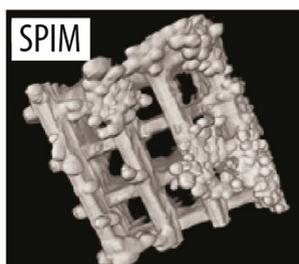
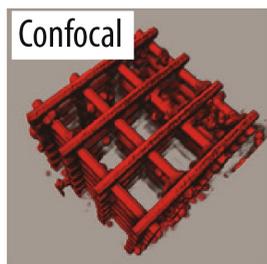
- Germier, T., S. Kocanova, N. Walther, A. Bancaud, H.A. Shaban, H. Sellou, A. Zaccaria Politi, J. Ellenberg, F. Gallardo, and K. Bystricky. 2017. **Real-time chromatin dynamics at the single gene level during transcription activation.** *Biophys J.* 2017 Oct 3; 113(7):1383-1394
- La société NeoVirTech SAS, spin-off du laboratoire hébergé à l'Institut des Technologies Avancées du Vivant (ITAV, USR3039), exploite cette technologie dans le but de développer des virus autofluorescents pour le criblage de molécules à activités antivirales de nouvelle génération.

Le fait marquant technologique :

Architectures 3D & colonisations cellulaires...

Les architectures 3D sont des outils essentiels qui, en recréant des environnements de cultures cellulaires biomimétiques, permettent l'étude de la croissance cellulaire, de la prolifération et de la différenciation. Des chercheurs du LAAS (CNRS), en partenariat avec les plateformes de TRI-Genotoul du CPTP et de l'ITAV, sont parvenus, grâce au gravage laser réalisé à l'aide de microscopes multiphotons, à fabriquer des échafaudages 3D autoportants. Ces supports ont été ensuiteensemencés par des cellules neurales puis caractérisés à l'aide d'approches avancées d'imagerie par fluorescence 3D. Les résultats publiés dans la revue *Small* de *Advanced Science news* se révèlent particulièrement encourageants.

La technique employée, autorise un processus de fabrication beaucoup plus fin (≈ 200 nm) que les technologies habituelles d'impression 3D classiques.



Les échantillons ainsi créés ont ensuite été étudiés par de la microscopie électronique à balayage (MEB) précisant ainsi la morphologie des cellules et les connexions cellulaires autour de l'architecture 3D. Le positionnement du noyau, inaccessible par l'imagerie MEB conventionnelle, est quant à lui dévoilé par microscopie de fluorescence en feuille de lumière (SPIM) et imagerie confocale multiphotonique.

Ces différentes techniques ont mis en évidence de longues extensions neuritiques et une colonisation cellulaire optimale autour et à l'intérieur de l'échafaudage 3D.

Ces nouvelles architectures et techniques de caractérisation ouvrent des perspectives intéressantes à la fois pour la culture et l'observation de cellules neurales.

VALORISATION

- Accardo A, Blatché MC, Courson R, Loubinoux I, Thibault C, Malaquin L, Vieu C. Multiphoton Direct Laser Writing and 3D Imaging of Polymeric Freestanding Architectures for Cell Colonization. *Small*. 2017 Jul; 13(27).