

Nom de la plateforme	Plateforme Imagerie In Vitro
Responsable	Microscopie photonique : Dr Sylvette CHASSEROT-GOLAZ Microscopie électronique : Dr Frank W. PFRIEGER
Personne contact	Microscopie photonique : Dr Sylvette CHASSEROT-GOLAZ Microscopie électronique : Dr Valérie DEMAIS ; Cathy ROYER
E-mail	Photonique : chasserot@unistra.fr Electronique : frank.pfriege@unistra.fr ou fw-pfriege@gmx.de ; valerie.demais@unistra.fr ; cathy.royer@unistra.fr
Téléphone	Photonique : 03 88 45 67 39 Electronique : 03 88 45 66 45 ou 03 88 45 67 08
Adresse complète	Centre de Neurochimie 8 rue du Général Rouvillois 67000 STRASBOURG
Etablissement d'affiliation	CNRS UAR 3156 et ITI Neurostra Strasbourg
Site internet	http://imagerieinvitro.u-strasbg.fr/
Type d'activité de la plateforme	Prestation de service
Domaine d'activité	Imagerie
Description	La plateforme Imagerie in Vitro propose un accès payant à des services de microscopies photoniques et électroniques pour des équipes de recherche publiques ou privées (R&D) au niveau local, national et international. Elle offre également un service de préparation des échantillons pour la microscopie électronique (fixation, inclusion et coupe). L'expertise de la plateforme Imagerie in Vitro s'applique à l'étude de matériels biologiques (tissus, cellules ou organites isolés) et chimiques (nanoparticules, polymères) à l'échelle structurale (micromètre) et ultrastructurale (nanomètre). Elle s'étend à la visualisation immunocyto- et histochimique des molécules et à la détection phénotypique de l'expression de gènes.
Mots clés	microscopie électronique ; microscopie photonique
Secteur	Public
Localisation	Alsace
Gouvernance	La plateforme est rattachée administrativement à l'UAR3156 du CNRS.
Outils et techniques proposés	Microscopie photonique : Observation et acquisition Microscopie électronique : <ul style="list-style-type: none"> • Préparation des échantillons • Fixation chimique et cryogénique, • Inclusion en résines époxy et acrylique, • Immuno-cytochimie et immuno-gold pour la microscopie électronique par transmission et à balayage • Ultramicrotomie et cryo-ultramicrotomie • Feuilles membranaires, tissus et cultures cellulaires • Métallisations (or-palladium et carbone) et point-critique • Observation : Microscopie électronique par transmission (MET) Microscopie corrélative Microscopie électronique à balayage (MEB) : électrons secondaires et rétrodiffusés
Utilisations actuelles et potentielles	Depuis 2011, la plateforme a contribué en moyenne à 40 projets par an et le taux d'utilisation annuel des microscopes dépasse les 3000 heures (entre 70 % et 100 % selon le type de microscope). La plateforme a apporté des

	<p>contributions substantielles à des publications dans des journaux à comité de lecture, dans lesquelles les membres de la plateforme sont co-auteurs. Plusieurs développements ont vu le jour ces dernières années : l'imagerie par bioluminescence (LuminoView LV200 Olympus), l'immunomarquage en MEB, l'imagerie des feuilletts membranaires en MEB et en MET et la microscopie corrélative. En 2016 et 2017, grâce aux soutiens financiers de la Fédération pour la Recherche Médicale (FRM) et de la Fédération pour la Recherche sur le Cerveau (FRC) - Club Rotary la cryofixation à haute pression a été développée et le CNRS a participé à l'achat d'un scanner de lame. En 2019, un congélateur à haute pression permettant la cryofixation (systeme Wohlwend) et un microscope MET (Hitachi) d'occasion ont été acquis. En 2021 l'achat du microscope confocal Stellaris 8 avec un module de super-résolution STED a été financé par la Région Grand Est (Programme Cluedol), l'INSB du CNRS et l'Unistra.</p>
<p>Prestations</p>	<p><u>Tarifs pour les laboratoires publics</u> Location du laboratoire : 7 €/échantillon Préparation d'échantillons à chaud : 14,50 € échantillon Préparation d'échantillons à froid : 11,50 €/échantillon Préparation CPC : 10 €/h Immunomarquages : 11,50 €/échantillon Mise à disposition de l'ultracut : 44 €/la séance de 4 h Coupe à l'ultracut : 86 €/la séance de 4 h Mise à disposition d'un diamant : 11 €/la séance de 4 h Formation à l'utilisation de l'ultracut : 4 séances de 4h 88 € Location microscope électronique : 56 €/la séance de 4 h Observation microscope électronique : 94 €/la séance de 4 h Formation à l'utilisation du microscope électronique : 4 séances de 4h 380 € Métallisation : 10 échantillons 11 €/10 échantillons Point critique : 11 €/échantillon Analyse d'images : 11 €/h Location microscope confocal Leica SP5 : 32 €/h Location vidéo-microscope : 23 €/h Location microscope LV 200 : 2,50 €/h</p> <p><u>Tarifs pour les laboratoires privés</u> Location du laboratoire : 43,50 €/échantillon Préparation d'échantillons à chaud : 60,50 €/échantillon Préparation d'échantillons à froid : 46,50 €/échantillon Préparation CPC : 45,50 €/h Immunomarquages : 47 €/échantillon Mise à disposition de l'ultracut : 188 €/la séance de 4 h Coupe à l'ultracut : 256 €/la séance de 4 h Mise à disposition d'un diamant : 55 €/la séance de 4 h Formation à l'utilisation de l'ultracut : 4 séances de 4h 260 € Location microscope électronique : 196 €/la séance de 4 h Observation microscope électronique : 270 €/la séance de 4 h Formation à l'utilisation du microscope électronique : 4 séances de 4h 1120 € Métallisation 10 échantillons : 47 €/10 échantillons Point critique : 47 €/échantillon Analyse d'images : 47 €/h Location microscope confocal Leica SP5 : 80 €/h Location vidéo-microscope : 72 €/h Location microscope LV 200 : 49 €/h</p>

Utilisateurs	La plateforme est impliquée dans une grande variété de projets interdisciplinaires (biologie, chimie, agro, médecine). Environ deux tiers des utilisateurs proviennent de l'INCI UPR3212 du CNRS (6 groupes), les autres viennent d'autres instituts de Strasbourg (IBMC, IBMP, ISIS, IPHC, ECPM, Inserm U1109, U1110 ; CNRS UPR 9022, 9010, 9021 ; CNRS/Unistra UMR 7509, 7006, 7034, 7165 ; EA 7292 de l'Unistra), de France (INRA Colmar ; Centre européen d'étude du diabète ; Ecole nationale d'industrie laitière, Besançon ; Pôle d'archéologie interdépartemental Rhénan, Sélestat ; INRS Nancy ; ENIM Metz ; UMR 5163 Grenoble ; Institut Pasteur Paris ; CCML Paris ; UMR CNRS /ENS 8542 Paris ; UMR Inserm/Université Henri Poincaré U734 de Nancy ; UMR 7102 CNRS/Université Pierre et Marie Curie Paris ; UMR 8162 CNRS/IPSC/Université Paris XI Paris) et de l'étranger (Canada, Allemagne, Italie, Suède, USA).
Activité cancer	10 %
Equipements	Microscopes confocaux : SP5 II Leica :4 lasers (Diode 405, Argon 488; Diode561, HeNe 633), détection spectrale et scanner résonant (2010) - Stellaris 8 Leica avec un module STED pour la super-résolution Vidéo microscope : Axiovert 200 ZEISS (caméra ImagEM Hamamastu) (2004-2009) Microscope à bioluminescence : Luminoview LV200 Olympus (2013) Scanner de lames : Nanozoomer Hamamastu (2017) 2 Microscopes électroniques par transmission : Hitachi H7500 équipé d'une caméra AMT Hamamatsu (2000) Microscope électronique à balayage : Hitachi S800 (1988) avec un détecteur d'électrons rétrodiffusés (2010) Laboratoire de préparation d'échantillons : Ultracryomicrotomes (Leica EM UC6 et Reichert) Système de cryosubstitution Leica (Leica EM AFS) Appareil de cryofixation (Leica EM CPC) Système de déshydratation au point critique (Balzers Union) Appareil de métallisation (Balzers Union) Automate de marquage immunocytochimique à l'or (LEICA EM IGL) Automate d'inclusion (Leica AMW). Congelateur haute pression (Wohlwend)
Valeur totale approximative des équipements	5 000 kEuros
Effectif de la plateforme	2 ingénieurs d'étude. Les personnels de la plateforme Imagerie In Vitro ont une expertise reconnue en microscopie confocale et en microscopie électronique par transmission et à balayage, ainsi que dans les différentes techniques de préparation d'échantillons (chimio-fixation, cryo-fixation et cryo-substitution) et de détection moléculaire (immuno-cytochimie : immuno-fluorescence, immuno-peroxydase, immuno-gold) appliquées aux tissus biologiques, aux cultures primaires de cellules et organotypiques de tissu et aux feuillets de membrane cellulaire. De nouvelles technologies sont régulièrement développées ou adaptées pour répondre et anticiper aux besoins des utilisateurs. Les développements récents incluent la microscopie à bioluminescence, la cryofixation et la microscopie corrélative. Les personnels de la plateforme participent à l'enseignement de la microscopie à différents niveaux : enseignement des techniques de microscopie de base et avancées aux étudiants de Master et aux doctorants, formation permanente des personnels, stagiaires des Brevets de technicien supérieur.
Labellisation	CoRTecS

Financements	La plateforme s'autofinance en facturant les prestations par l'intermédiaire d'une grille tarifaire établie en accord avec l'administration du CNRS. L'argent obtenu permet de subvenir aux achats de consommables, à la mise à jour des appareils et aux contrats de maintenance des microscopes. Les achats des nouveaux équipements et le renouvellement des équipements existants dépend de demandes de financements internes (CNRS, Université) ou externe (Région Grand Est).
Réseaux	Réseau d'imagerie cellulaire des Universités de Strasbourg et de Haute-Alsace Réseau technologique MFM Réseau des Centres communs de microscopie Réseau RTMFM - Microscopie photonique de fluorescence multidimensionnelle
Partenaires et collaborations	La plateforme fait partie de RISE (Réseau d'imagerie cellulaire des Universités de Strasbourg et de Haute-Alsace).
Perspectives et projets à court terme	Dans le futur, la plateforme envisage de continuer ses activités mais également de développer de nouvelles techniques en fonction des besoins des clients. Afin de satisfaire la forte demande des utilisateurs, des financements externes sont activement recherchés pour acquérir de nouveaux équipements aussi bien en microscopie électronique (MET et MEB) qu'en microscopie photonique et pour renforcer le personnel.
Références	<ul style="list-style-type: none"> - Gabel, M., F. Delavoie, V. Demais, C. Royer, Y. Bailly, N. Vitale, M.F. Bader, and S. Chasserot-Golaz. 2015. Annexin A2-dependent actin bundling promotes secretory granule docking to the plasma membrane and exocytosis. <i>J Cell Biol.</i> 210:785-800. - Demais V, Barthélémy A, Perraut M, Ungerer U, Keime C, Reibel S, Pfrieder FW. 2016. Reversal of pathologic lipid accumulation in NPC1-deficient neurons by drug-promoted release of LAMP1-coated lamellar inclusions. <i>J Neurosci</i> 36:8012-8025. - Scekic-Zahirovic J, ..., Demais V, ..., Dupuis L. Cytoplasmic FUS triggers early behavioral alterations linked to cortical neuronal hyperactivity and inhibitory synaptic defects. <i>Nat Commun.</i> 2021 May 21;12(1):3028. doi: 10.1038/s41467-021-23187-9. - Gabel M., Delavoie F., Royer C., Tahouly T., Gasman S., Bader M.F., Vitale N., Chasserot-Golaz S. Phosphorylation cycling of Annexin A2 Tyr 23 is critical for calcium-regulated exocytosis in neuroendocrine cells. <i>BBA Molecular Cell Research</i>, 2019, vol.1866, Issue 7, 1207-1217. - Delavoie F., Royer C., Gasman S., Vitale N., Chasserot-Golaz S. Transmission Electron and on Plasma Sheets to Study Secretory Docking. <i>Exocytosis and Endocytosis : Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology</i>, 2021 Vol. 2233 :301-309. - Ghoroghi S, ..., Royer C., ..., Hyenne V. Ral GTPases Promote Metastasis by Controlling Biogenesis and Organotropism of Exosomes. <i>eLife</i> 2021;10:e61539 doi: 10.7554/eLife.61539. - Tanguy E., Thaouly T., Royer C., Demais V., Gasman S., Chasserot-Golaz S., Vitale N. Protocol for electron microscopy ultrastructural localization of the fusogenic lipid phosphatidic acid on plasma membrane sheets from chromaffin cells; <i>Star Protocols Volume 2, Issue 2, 2021</i>, https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100464. - Dorgans K, Demais V, Bailly Y, Poulain B, Isope P, Doussau F. Short-term plasticity at cerebellar granule cell to molecular layer interneuron synapses expands information processing. <i>Elife.</i> 2019 May 13;8. pii: e41586. doi: 10.7554/eLife.41586. PMID: 31081751 - Bailly Y, Rabacchi S, Sherrard RM, Rodeau JL, Demais V, Lohof AM, Mariani J. Elimination of all redundant climbing fiber synapses requires granule cells

	<p>in the postnatal cerebellum. <i>Sci Rep.</i> 2018 Jul 3;8(1):10017. doi: 10.1038/s41598-018-28398-7. PMID: 29968809</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ragagnin A, ..., Demais V, ..., Bailly Y. Cerebellar compartmentation of prion pathogenesis. <i>Brain Pathol.</i> 2017 Mar 7. - Liu Z, ..., Demais V, ..., Renault H. A Conserved Cytochrome P450 Evolved in Seed Plants Regulates Flower Maturation. <i>Mol Plant.</i> 2015 Dec 7; 8(12):1751-65. - Barthelemy A, Demais V, Stancu IC, Vasile E, Houben T, Reber M, Pallottini V, Perraut M, Reibel S, Pfrieder FW. Glial contribution to cyclodextrin-mediated reversal of cholesterol accumulation in murine NPC1-deficient neurons in vivo. <i>Neurobiol Dis.</i> 2021 Oct; 158:105469. doi: 10.1016/j.nbd.2021.105469. Epub 2021 Aug 5. PMID: 34364974.
Besoins	<p>Equipements Nouveaux microscopes électroniques (MET et MEB) Nouvel appareil de métallisation Module FLIM (Lifetime CONtrast, FALCON) pour mesurer la demi-vie de fluorescence pour compléter le microscope confocal Stellaris 8 Poste d'ingénieur d'étude</p>
Commentaires Quels sont vos attentes vis-à-vis du Cancéropôle ?	<p>Ce recensement pourrait augmenter la visibilité de la plateforme et d'attirer de nouveaux utilisateurs. Nous espérons aussi un soutien financier pour le renouvellement des appareils vieillissants.</p>