Plateforme PHIV

http://phiv.cirad.fr et https://www1.montpellier.inra.fr/wp-inra/bpmp





Plateforme PHIV

Plateforme commune AGAP et BPMP

Deux sites aux compétences complémentaires : La Valette (CIRAD) et la Gaillarde (ici)

- -Anatomie/histologie
- -Hybridation in situ
- -Imagerie sans marquage (label free)
- -Echantillons épais et peu transparent

- -Imagerie subcellulaire
- -Imagerie du vivant
- -Biosenseurs

10 personnes

Partie intégrante de MRI (Mutualisation des ressources en microscopie)

Utilisation des équipements MRI

Favoriser les interactions avec MRI

Utilisation

- -Confocale
- -Super résolution
- -TIRF
- -FRAP
- -FRET/FLIM
- -Imagerie Spectrale

-Scanner de lame

-Microscopie à feuille de lumière

https://www.mri.cnrs.fr/fr/



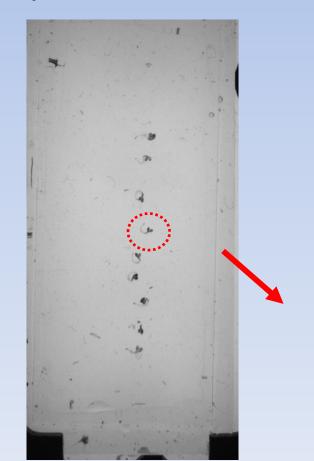


Imagerie automatisée

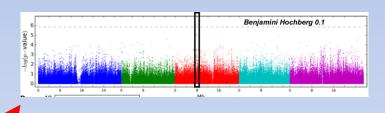
S.Chay

O.Richard

Génétique d'association de l'accumulation de fer



Scanner de lame lumière blanche/fluo



- -307 accessions
- -300 lames
- -3000 plantes analysées (logiciel d'analyse)

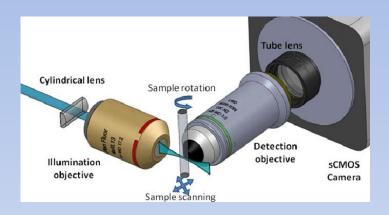






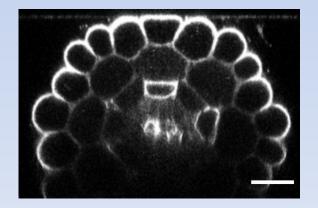
Microscopie à feuille de lumière

C.Alcon S. De Rossi



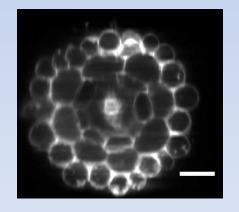
Faible photo toxicité
Homogénéité d'illumination
Verticale
Cinétique

Confocal

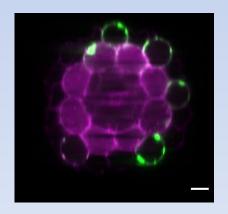


Temps d'acquisition 4-5 min

SPIM



Temps d'acquisition 20 - 30 sec

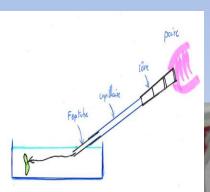


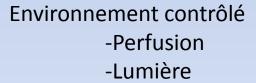
2 couleurs

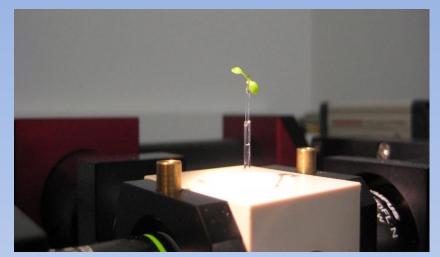


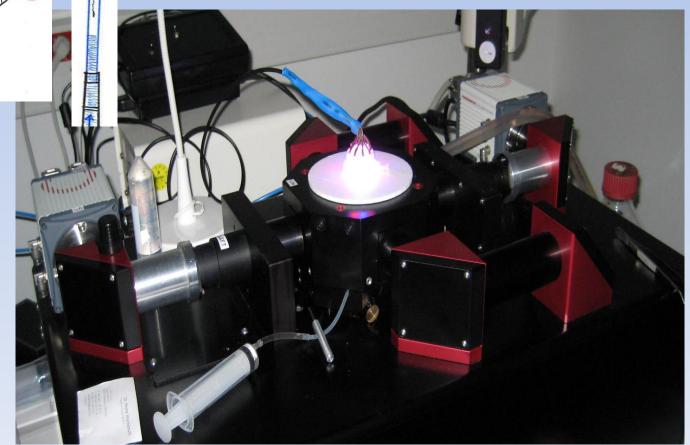


C.Alcon S.De Rossi

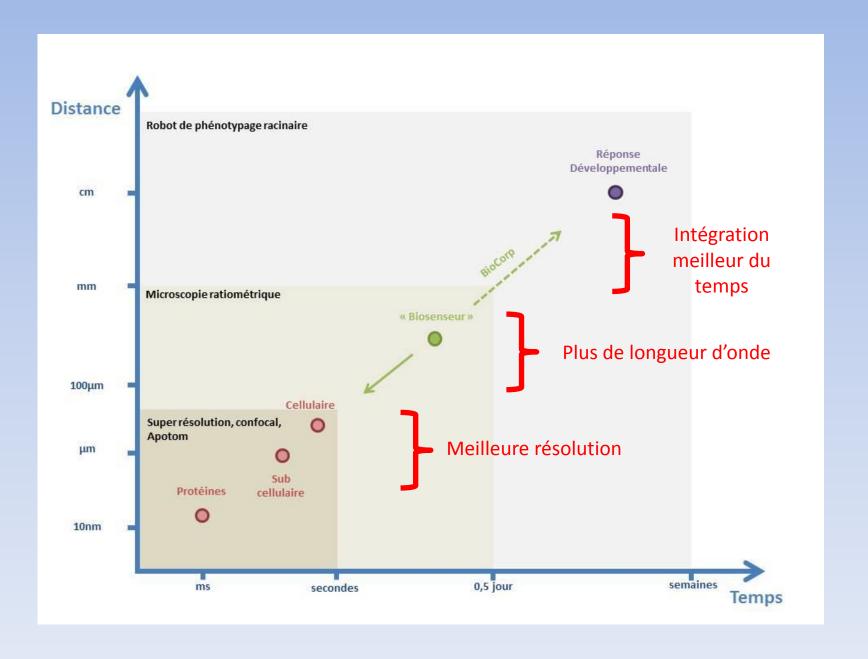








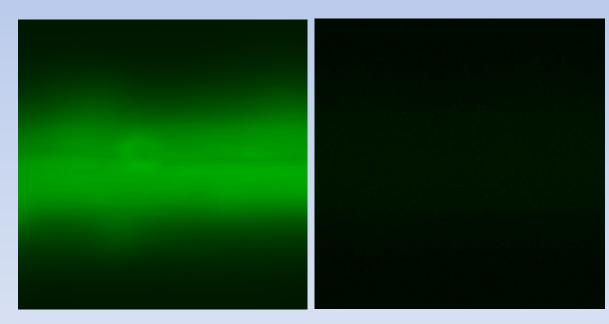
Stratégie local de la plateforme



Meilleure résolution en microscopie à fluorescence en champs large

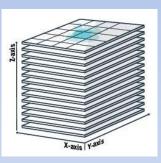
2016 achat de l'Apotome



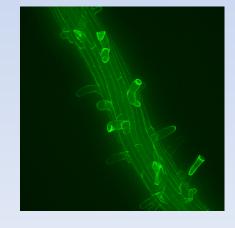




Apotome

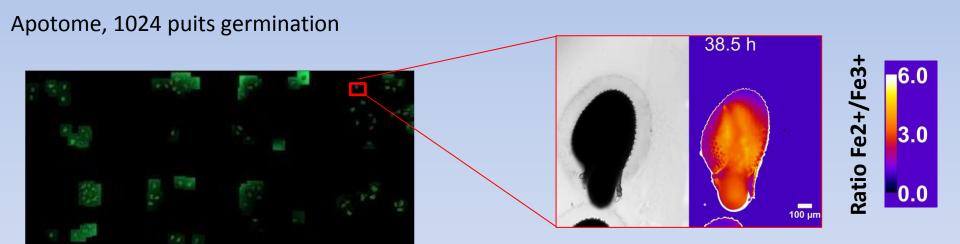






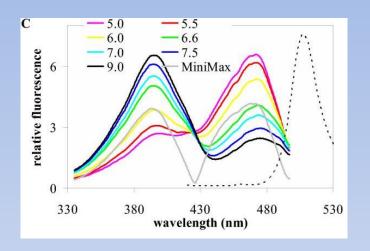
Meilleure résolution en microscopie à fluorescence en champs large

Multi couleurs/Multi positions automatisées

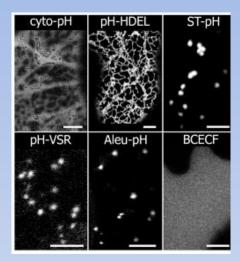


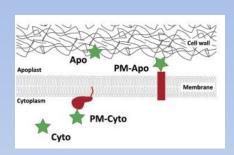
Plus de flexibilité

Biosenseurs = Imagerie ratiométrique



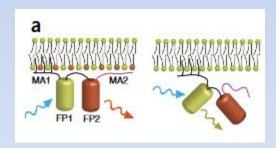
Targetting





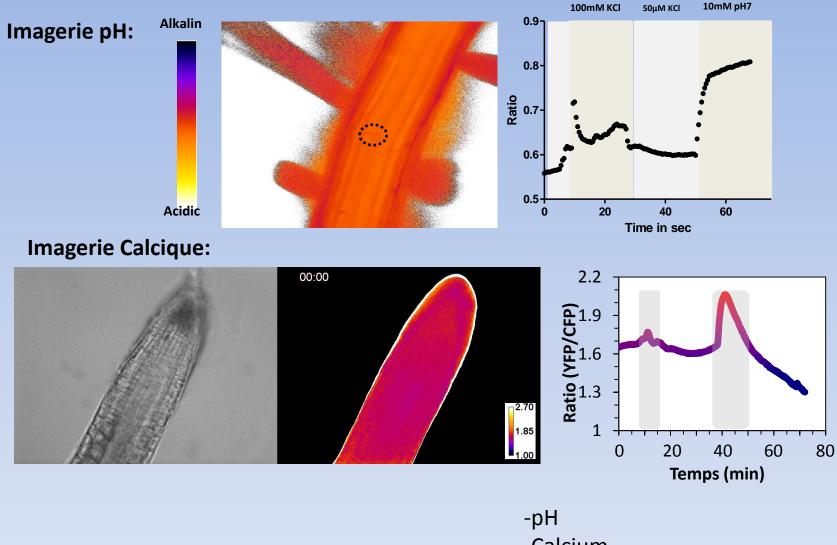
No FRET FRET 405 nm 477 nm 528 nm Venus >10 nm <10 nm

Senseur de charge anionique



Plusieurs longueur d'ondes à l'excitation ou à l'émission

Plus de flexibilité



2018 Nouvelle source LED!

-Calcium
-ROS (roGFP, Hyper, ...)
-GTPase
-NO3-/Cl-(ClopH)





Acquisition longue pour le développement de la racine

T.C.Xiong

C.Alcon A.Martiniere

BioCORP: Setup vertical multi-couleurs luminescent

Le setup et ses ambitions

Cinétique longue

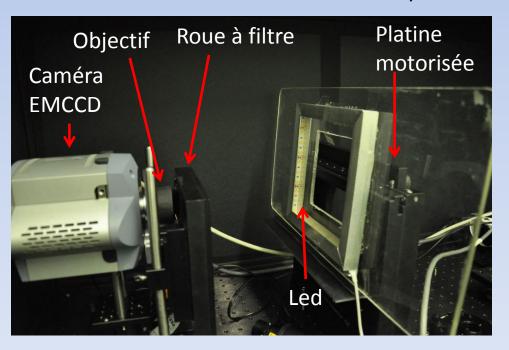
Architecture racinaire

Biosenseurs/rapporteurs



Bioluminescence

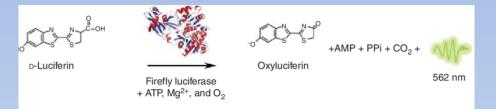
Défis CNRS instrumentation aux limites/BPMP







Acquisition longue pour le développement de la racine

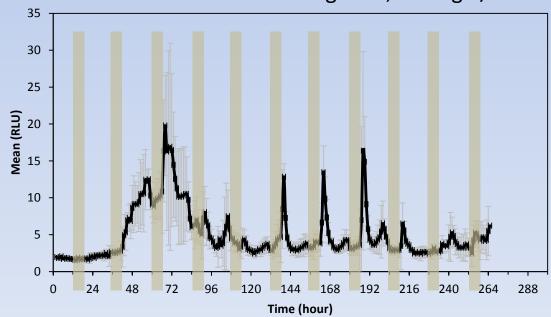




Germination graine, 1 image /heure



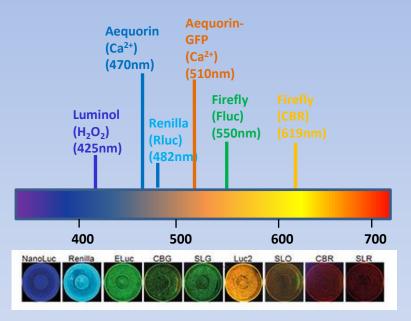
pZAT12:Luc (Rapporteur transcriptionnel pour les ROS)







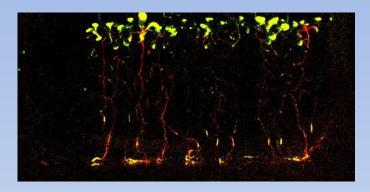
Acquisition longue pour le développement de la racine



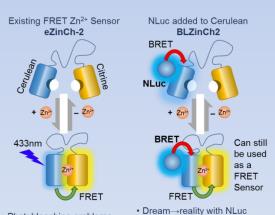
Adapté d'après Bauer et Dibner, 2013

Génération d'outils:

- -Plasmides Gatways avec NanoLuc/PPY/CBG
- -Plantes multi-rapporteurs hormonaux (auxin/CytoK/ABA)
- -Plantes multi-senseurs ROS/Ca^{2+,} pH, GTPase, ...



pZAT12:Luc/pAct:PER8



- Photobleaching problems
- No long term observations
- Allows long term observations
- Allows plate-based assays