

Programme de la Conférence Microscopie des Plantes

GDR Imabio, ENS Lyon, 1^{er} & 2 juin 2023

Jeudi 1^{er} juin

12h - Accueil - pizza et boissons

13h - Présentation du PLATIM: Jacques Brocard
Introduction à la conférence: Jérôme Mutterer

Imagerie de la plante et des microalgues – Introduction à des techniques additionnelles:

13h30 – Coupler l'imagerie confocale avec la **microfluidique** pour imager dans le temps des microalgues uniques - Camille Raillon, LPCV Grenoble

14h00 – Imagerie des racines d'*Arabidopsis thaliana* en combinant la **microfluidique et la microscopie à platine verticale** - Nelson Serre, RDP Lyon

14h30 – Qu'avons-nous appris au sujet de la croissance des plantes en les sondant avec un **microscope à force atomique (AFM)** - Alexis Peaucelle, IJPB Versailles

15h00 - Poster flash presentations

15h30 – Pause-café avec Posters et Stands Sponsors

17h00 à 19h30 – Ateliers au RDP et au PLATIM :

(Une description détaillée des ateliers est disponible plus bas)

Il est possible de venir avec vos échantillons, merci de contacter la personne responsable de l'atelier.

Atelier 1: Nelson Serre (Microscope Zeiss 980, vertical stage, RDP)

Analyse in vivo de réponses cellulaires rapides en combinant la microfluidique et la microscopie à platine verticale

Atelier 2: Laure Mancini (Laser ablation, PLATIM + Microscope Zeiss 980, RDP)

Phyllotaxie à partir d'une cellule souche unique chez la mousse *Physcomitrium patens*

Atelier 3: Marie-Cécile Caillaud (Spinning disk, RDP)

Suivi automatisé de l'extrémité de la racine et imagerie à haute résolution

Atelier 4: Carlos Galvan-Ampudia, Hugo Caumon (Leica Stellaris8 FALCON, PLATIM)

Comment l'hormone auxine contrôle l'activité du méristème apical caulinaire : une approche multicolore et quantitative

Atelier 5: Vincent Bayle (Zeiss ELYRA, PLATIM)

Localisation et dynamique de molécules uniques à l'aide du photoswitching de protéines fluorescentes

Atelier 6: Melogno Isaty (Zeiss 980, RDP)

Microconfinement de cellules uniques afin d'étudier leur forme et les patrons de tension qu'elle engendre

Atelier 7: Camille Raillon (Videomicroscope @PLATIM)

Microfluidique et microscopie pour imager des microalgues à l'échelle de la cellule unique

Atelier 8: Simone Bovio (AFM @PLATIM)

Sonder les propriétés mécaniques des racines secondaires d'*Arabidopsis thaliana* vivante : un exemple d'application de la microscopie à force atomique au-delà de la topographie.

20h00 – Dîner dans un restaurant

Friday June 2nd

9h00 - Bases moléculaire de l'intégration temporelle de la signalisation auxinique dans le méristème apical caulinaire - Carlos Galvan Ampudia / Hugo Caumon, RDP Lyon

9h30 - Nanodomaine membranaire et signalisation osmotique chez les plantes - Alexandre Martinière, IPSiM Montpellier

10h00 - Analyse dynamique de l'association transitoire entre les compartiments endomembranaires : Comment les suivre et les quantifier - Louise Fougère, LBM Bordeaux

10h30 - Présentations de Sponsors

11h00 - Pause-café avec Posters et Stands Sponsors

11h30 - Biogenèse des gouttelettes lipidiques chez la microalgue *Phaeodactylum tricornutum* : apports de l'imagerie - Juliette Salvaing, LPCV Grenoble

12h00 - Adaptation de la microscopie confocale aux études de photophysologie intracellulaire - Dimitri Tolleter, LPCV Grenoble

12h30 - Les marginaux : contrôle de la croissance à la surface des organes, Charlotte Kirchhelle, RDP Lyon

13h00 - Fin de la conférence

Description détaillée des ateliers:

Atelier 1: Nelson Serre nelson.serre@ens-lyon.fr

(Microscope Zeiss 980, vertical stage, RDP)

Analyse in vivo de réponses cellulaires rapides en combinant la microfluidique et la microscopie à platine verticale

L'atelier illustrera que la combinaison de la microfluidique et de la microscopie à platine verticale est un outil puissant pour étudier les réponses très rapides des racines d'*Arabidopsis thaliana*. La méthode sera illustrée en observant la croissance des racines avant et immédiatement après un traitement (ici le NaCl qui produit un effet visible sur les racines). Les observations seront réalisées avec un microscope à platine verticale pour observer les racines dans leur orientation naturelle vers la gravité. Après une introduction rapide au système microfluidique, les participants auront la possibilité de préparer des puces microfluidiques à fermeture manuelle, de transférer des plantules et d'observer les racines en passant d'un milieu de contrôle à un milieu de traitement.

Atelier 2: Laure Mancini laure.mancini@ens-lyon.fr

(Laser ablation, PLATIM + Microscope Zeiss 980, RDP)

Phyllotaxie à partir d'une cellule souche unique chez la mousse *Physcomitrium patens*

La phyllotaxie est l'arrangement régulier des organes (feuilles, fleurs) le long de la tige. Le méristème apical, l'une des zones de cellules souches chez les plantes, est responsable de l'apparition des motifs phyllotactiques. Chez les bryophytes, le méristème apical est composé d'une cellule unique, appelée la cellule apicale. Chez la mousse *Physcomitrium patens*, il a été décrit que cette cellule est la seule responsable de la mise en place d'une phyllotaxie spiralée des tiges feuillées. Notre objectif est de revisiter cette hypothèse en tuant la cellule apicale à différents stades de développement afin de questionner la capacité d'adaptation et de régénération du voisinage de la cellule apicale.

Au cours de cette session, nous effectuerons des expériences d'ablation de cellule en utilisant un laser pulsé. Le but est d'éliminer la cellule apicale afin d'évaluer si les fonctions de la cellule apicale peuvent être prises en charge par les cellules voisines. Pour ce faire, nous utiliserons un microscope confocal à disque tournant équipé d'un laser pulsé (longueur d'onde 355 nm) et d'un objectif 40x. Étant donné la petite taille de la région méristématique de la mousse, cette approche est hautement adaptée pour induire des dommages ayant une résolution spatiale d'une cellule.

Atelier 3: Marie-Cécile Caillaud marie-cecile.caillaud@ens-lyon.fr

(Spinning disk, RDP)

Suivi automatisé de l'extrémité de la racine et imagerie à haute résolution

Pour suivre dans le temps les processus cellulaires dans l'extrémité de la racine, un ajustement manuel est nécessaire, sinon la zone étudiée sortira du champ de vision (l'extrémité de la racine sort du champ en 20 minutes environ). En développant une approche non supervisée pour suivre automatiquement les cellules, nous sommes en mesure de suivre automatiquement la région étudiée en temps réel pendant l'acquisition afin de compenser la croissance de la racine. Le protocole rend possible l'acquisition d'images de plusieurs extrémités de racines en croissance, augmentant ainsi le nombre d'événements cellulaires enregistrés dans une expérience donnée. Lors de l'atelier, nous nous concentrerons particulièrement sur l'imagerie de la cytokinèse dans le méristème de l'extrémité de la racine d'*Arabidopsis*, mais ce protocole convient également pour suivre la croissance des poils racinaires, la croissance du tube pollinique et d'autres régions

de la racine au fil du temps, dans diverses espèces végétales. Il peut également être modifié pour suivre automatiquement des structures non végétales ayant une croissance apicale.

Atelier 4: Carlos Galvan-Ampudia, Hugo Caumon

carlos.galvan-ampudia@ens-lyon.fr, hugo.caumon@ens-lyon.fr

(Leica Stellaris8 FALCON, PLATIM)

Comment l'hormone auxine contrôle l'activité du méristème apical caulinaire : une approche multicouleur et quantitative

Dans l'atelier, nous présenterons les principes d'action de l'hormone auxine, et nous montrerons comment l'utilisation combinée de différents senseurs et rapporteurs fluorescents en microscopie spectrale multicouleur permet de décrypter le modus operandi de l'auxine dans la régulation de l'identité cellulaire et de l'organisation tissulaire dans le méristème apical.

Atelier 5: Vincent Bayle vincent.bayle11@ens-lyon.fr

(Zeiss ELYRA, PLATIM)

Localisation et dynamique de molécules uniques à l'aide du photoswitching de protéines fluorescentes

L'atelier portera sur le single-particle tracking photoactivated localization microscopy (sptPALM), une technique de microscopie à super-résolution, ici appliqué à des pointes de racines vivantes de la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. Il couvrira l'ensemble de l'expérience, de la préparation des échantillons à la segmentation et l'analyse des trajectoires en passant par l'acquisition. L'atelier utilisera plusieurs types de protéines membranaires avec des dynamiques différentes. Éventuellement, la PALM classique sur des échantillons fixes sera réalisée comme approche complémentaire.

Atelier 6: Melogno Isaty isaty.melogno@ens-lyon.fr

(Zeiss 980, RDP)

Microconfinement de cellules uniques afin d'étudier leur forme et les patrons de tension qu'elle engendre

Le modèle de la cellule unique peut s'avérer très utile lorsqu'on veut découpler des paramètres tissulaires et cellulaires (comme par exemple la forme de la cellule, ou son interaction avec ses voisines). Dans cet atelier, nous montrerons comment faire adopter différentes formes à un protoplaste en utilisant des micropuits. Par soucis de temps, la préparation des protoplastes aura déjà été commencée, mais nous verrons comment fabriquer les micropuits, comment y confiner les protoplastes et les imager.

Atelier 7: Camille Raillon camille.raillon@cea.fr

(Inverted microscope, PLATIM)

Microfluidique et microscopie pour imager des microalgues à l'échelle de la cellule unique

Au cours de cet atelier, nous démontrerons que la microfluidique est un outil puissant pour étudier des échantillons biologiques tels que les microalgues unicellulaires pour faire de la haute résolution spatio-temporelle. En utilisant un banc de mesure dédié où une puce microfluidique sera couplée à un microscope inversé, nous démontrerons le piégeage hydrodynamique et l'imagerie unicellulaire de microalgues de 5 à 20 μm . Le contrôle du débit sera établi à l'aide d'une pompe à seringue commerciale. Les participants apprendront les bases de la microfluidique, comment la mettre en œuvre et les avantages et inconvénients de cette méthode

lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec la microscopie à fluorescence pour étudier les microalgues.

Atelier 8: Simone Bovio simone.bovio@ens-lyon.fr
(AFM, PLATIM)

Sonder les propriétés mécaniques des racines secondaires d'*Arabidopsis thaliana* vivante : un exemple d'application de la microscopie à force atomique au-delà de la topographie.

Dans cet atelier, nous verrons comment utiliser un microscope à force atomique (AFM) pour effectuer des mesures de nano-indentation sur un organe végétal vivant, dans ce cas une racine secondaire d'*Arabidopsis thaliana*. Au cours de l'atelier, nous verrons le principe de fonctionnement d'un AFM et nous suivrons les étapes de la mise en place d'une expérience de nano-indentation. À la fin, les participants apprendront à analyser les données afin de calculer le module d'Young local de l'échantillon.