

Editorial par Eric QUÉMÉNEUR

L'invitation du Directeur de l'IBEB à prendre la plume pour cet éditorial est une belle occasion pour rappeler la place de la toxicologie dans nos axes de recherche actuels et futurs. Cette 3^{ème} lettre l'illustre bien, nous disposons de modèles biologiques divers et complémentaires, couvrant un grande partie du champ "santé-environnement". Nos approches expérimentales permettent d'accéder à presque tous les niveaux de résolution requis pour caractériser les mécanismes fondamentaux de la réponse biologique. Je n'oublie évidemment pas dans cet inventaire notre capacité à démontrer le potentiel applicatif de nos connaissances. Cette position originale apparaît bien à la lecture de l'ouvrage collectif de Toxicologie Nucléaire qui sort ces jours-ci, ou en écoutant les interventions au colloque du 18 septembre au Muséum Nationale d'Histoire Naturelle (cf. p2). Le programme transversal récemment mis en place par le CEA représente une excellente opportunité pour conforter les équipes de l'IBEB. En renforçant nos partenariats et les approches pluridisciplinaires, nous préparerons efficacement l'avenir. Bonne lecture

Le mot du Directeur

Je profite de cet édito pour remercier Pierre LEGRAIN pour tout le travail réalisé pendant près de deux ans à la tête de DSV et pour souhaiter la bienvenue à Gilles BLOCH à ce poste. Nous serons très heureux de l'accueillir à Marcoule et à Cadarache les 23 et 24 novembre 2009.

Dans ce numéro :

Zoom sur quelques résultats 1

Publications et conférences invitées 2

Rencontres Cadarache-Jeunes 3

Mouvements de personnel 3

Séminaires iBEB 3

Agenda 4

Contrats et Brevets 4

A lire et à surfer... 4

Vie des laboratoires 5

☆ **Dossier thématique :** 6-8
 ☆ *imagerie cellulaire et in vivo à l'IBEB*

Acteurs de l'IBEB 9

AtHMA3, un transporteur vacuolaire de Cd/Co/Pb chez Arabidopsis

L'équipe du LEMS a caractérisé un transporteur de métaux lourds chez *Arabidopsis thaliana* ne prenant en charge que les éléments toxiques cadmium, plomb et cobalt. Il s'agit d'une P_{1B-2}-ATPase du sous-groupe des HMA (Heavy Metal Associated) permettant leur compartimentation dans la vacuole, lieu de stockage de la cellule végétale. Cette compartimentation rend ces éléments moins toxiques. La surexpression de cette protéine conduit à des plantes plus résistantes à ces métaux lourds bien que leur accumulation soit accrue. Cette propriété permet d'envisager d'utiliser AthMA3 dans des stratégies de phytoremédiation. Cette protéine est très homologue à AthMA4, principal responsable de la translocation du zinc et du cadmium des racines vers les parties aériennes des plantes. Il est remarquable que les orthologues de cette protéine présentent un très haut niveau d'expression chez les plantes métalophytes (capables d'accumuler plus de 0.1% de cadmium en masse sèche). Les protéines de la famille HMA sont donc les vecteurs majeurs de la prise en charge du cadmium chez les plantes. (Morel *et al.*, 2009, *Plant Physiol.* **149**: 894-904)

Contact : Alain VAVASSEUR

Mode d'action des micro-ARN chez les plantes

La découverte du RNA silencing au début des années 90 a ouvert la voie vers la caractérisation d'un mécanisme essentiel de régulation post-transcriptionnelle conservé chez les eucaryotes. Ce mécanisme est basé sur la reconnaissance intramoléculaire entre un petit ARN non codant et un ARN_m qui conduit à l'inhibition de la traduction de ce dernier en protéine. Le LGBP (SBVME/Luminy) a pu mettre en évidence le lien biochimique existant entre les partenaires du RNA silencing et la machinerie de traduction chez *Arabidopsis thaliana*. Cette étude met en évidence la similarité des mécanismes du RNA silencing chez les plantes et chez les animaux. Considérant l'abondance des petits ARNs chez les plantes, ces travaux suggèrent une grande diversité des mécanismes de régulations post-transcriptionnelles. (Lanet *et al.*, 2009, *Plant Cell* **21**: 1762-1768)

Contact : Christophe ROBAGLIA

Vers un candidat-médicament original contre la toxoplasmose et le paludisme ?

Des chercheurs de l'UJF Grenoble, du LEMIRE (iBEB), de l'IRTSV Grenoble et de l'INRA viennent de montrer qu'une molécule appelée FR235222 est capable de réprimer spécifiquement l'activité d'une enzyme produite par des parasites de cellules animales, tels que ceux responsables du paludisme et de la toxoplasmose. Ces chercheurs ont montré que la molécule produite par un champignon filamenteux, influe sur l'expression d'environ 5% des gènes parasitaires et bloque la prolifération intracellulaire du parasite. Cette molécule est donc un candidat possible dans la quête d'un nouveau médicament contre ces infections. Dans leur grande majorité, les expérimentations ont été faites au sein de l'équipe INSERM du Dr Ali-Hakimi, alors que les analyses statistiques et bioinformatiques ont été réalisées par Philippe Ortet (iBEB) et Olivier Bastien (CEA-Grenoble, INRA). (Bougdour *et al.*, 2009, *J. Exp. Med.* **206**: 953-966)

Contact : Philippe Ortet, Olivier Bastien

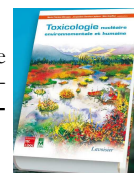


Dernières publications de l'iBEB



- Armengaud J** (2009) A perfect genome annotation is within reach with the proteomics and genomics alliance. *Curr. Opin. Microbiol.* **12**: 292-300.
- Arnoux P, Morosinotto P, Saga G, Bassi R, Pignol D** (2009) Violaxanthin de-epoxidase dimerization is a pH switch that regulates light harvesting. *Plant Cell*. Sous presse.
- Barakat M, Ortet P, Jourlin-Castelli C, Méjean V, Whitworth DE** (2009) P2CS: a wiki-like annotatable database for prokaryotic two-component systems. *BMC Genomics* **10**: 315.
- Bressan M, Roncato MA, Bellvert F, Comtes G, Haichar FZ, Achouak W, Berge O** (2009) Exogenous glucosinolate produced by *Arabidopsis thaliana* impacts microbial populations inhabiting rhizosphere and roots. *ISME J*. Sous presse.
- Chochois V, Dauvillée D, Beyly A, Tolleter D, Cuiné S, Timpano H, Ball S, Cournac L, Peltier G** (2009) Hydrogen production in *Chlamydomonas*: PSII-dependent and independent pathways differ in their requirement on starch metabolism. *Plant Physiol*. Sous presse.
- Didieu A, Bérenguer F, Basset C, Prat O, Quéméneur E, Pible O, Vidaud C** (2009) Identification of uranyl binding proteins from human kidney-2 cell extracts by immobilized uranyl affinity chromatography. *J Chromatogr A*. **1216**: 5365-5376.
- Dementin S, Leroux F, Cournac L, de Lacey AL, Volbeda A, Léger C, Burlat B, Martínez N, Champ S, Martin L, Sanganas O, Haumann M, Fernández VM, Guigliarelli B, Fontecilla-Camps JC, Rousset M** (2009) Introduction of methionines in the gas channel makes [NiFe] hydrogenase aero-tolerant. *J. Am. Chem. Soc.* **131**: 10156-10164.
- Dreyfus C, Lemaire D, Mari S, Pignol D, Arnoux P** (2009) Crystallographic snapshots of substrate translocation during phytosiderophore synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Sous presse.
- Dulermo R, Fochesato S, Blanchard L, de Groot A** (2009) Mutagenic lesion bypass and two functionally different RecA proteins in *Deinococcus deserti*. *Mol. Microbiol.* **74**: 194-208.
- Erable B, Roncato MA, Achouak W, Bergel A** (2009) Sampling natural biofilms: a new route to build efficient microbial anodes. *Environ. Sci. Technol.* **43**: 3194-3199.
- Esbelin J, Armengaud J, Zigha A, Duport C** (2009) ResDE-dependent regulation of enterotoxin gene expression in *Bacillus cereus*: evidences for multiple modes of binding for ResD and interaction with Fnr. *J. Bacteriol.* Sous presse.
- Evans JR, Kaldenhoff R, Genty B, Terashima I** (2009) Resistances along the CO₂ diffusion pathway inside leaves. *J. Exp. Bot.* **60**: 2235-2248.
- Jeanson A, Berthon C, Coantic S, Den AuWer C, Floquet N, Funke H, Guillaneux D, Hennig Ch, Martinez J, Moisy Ph, Petit S, Proux O, Quéméneur E, Lorenzo Solari P, Subra G** (2009) The role of aspartyl-rich pentapeptides in comparative complexation of actinide (IV) and iron (III). Part 1. *New J. Chem.* **33**: 976-985.
- Levesque-Tremblay G, Havaux M, Ouellet F** (2009) The chloroplastic lipocalin AtCHL prevents lipid peroxidation and protects Arabidopsis against oxidative stress. *Plant J*. Sous presse.
- Malard V, Gaillard JC, Bérenguer F, Sage N, Quéméneur E** (2009) Urine proteomic profiling of uranium nephrotoxicity. *Biochim. Biophys. Acta* **1794**: 882-891.
- Pons TL, Flexas J, von Caemmerer S, Evans JR, Genty B, Ribas-Carbo M, Brugnoli E** (2009) Estimating mesophyll conductance to CO₂: methodology, potential errors, and recommendations. *J. Exp. Bot.* **60**: 2217-2234.
- Prat O, Bérenguer F, Steinmetz G, Ruat S, Sage N, Quéméneur E** (2009) Alterations in gene expression in cultured human cells after acute exposure to uranium salt: Involvement of a mineralization regulator. *Toxicol. In Vitro*. Sous presse.
- Prat O, Vercouter T, Ansoborlo E, Fichet P, Perret P, Kurttio P, Salonen L** (2009) Uranium speciation in drinking water from drilled wells in Southern Finland and its potential links to health effects. *Environ. Sci. Technol.* **43**: 3941-3946.
- Roa H, Lang J, Culligan KM, Keller M, Holec S, Cognat V, Montane MH, Houline G, Chaboute ME** (2009) RNR regulation in response to genotoxic stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. Sous presse.
- Tarrago L, Laugier E, Zaffagnini M, Marchand C, Le Maréchal P, Rouhier N, Lemaire SD, Rey P** (2009) Regeneration mechanisms of *Arabidopsis thaliana* methionine sulfoxide reductases B by glutaredoxins and thioredoxins. *J. Biol. Chem.* **284**: 18963-18971.
- Ticconi CA, Lucero RD, Sakhonwasee S, Adamson AW, Creff A, Nussaume L, Desnos T, S Abel** (2009) ER-resident proteins, PDR2 and LPR1, mediate the developmental response of root meristems to phosphate availability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **106**: 14174-14179.
- Vandecandelaere I, Nercessian O, Faimali M, Segaert E, Mollica A, Achouak W, De Vos P, Vandamme P** (2009) Bacterial diversity of the cultivable fraction of a marine electroactive biofilm. *Bioelectrochem.* Sous presse.
- Zivanovic Y, Armengaud J, Lagorce A, Leplat C, Guérin P, Dutertre M, Anthouard V, Forterre P, Wincker P, Confalonieri F** (2009) Genome analysis and genome-wide proteomics of *Thermococcus gammatolerans*, the most radioresistant organism known amongst the Archaea. *Genome Biol.* **10**: R70.

Une mention spéciale pour les nombreux auteurs de l'iBEB qui ont participé à l'écriture et/ou au comité rédactionnel de l'ouvrage Lavoisier intitulé "Toxicologie Nucléaire Environnementale et Humaine".



Conférences invitées



- ☞ Cyril DREYFUS a été convié au Congrès Européen de Cristallographie Biologique. "Crystallographic snapshots of substrate translocation during phytosiderophore synthesis". 16-21 Aout 2009, Istanbul, Turquie.
- ☞ Odette PRAT a été invité à donner une conférence dans le cadre du congrès HEIR 2009 (Health Effets of Incorporated Radionuclides, 10-14 mai 2009, Santa Fe, USA) ainsi qu'au Symposium de Minéralogie, Environnement et Santé (Paris, 17-18 Septembre).
- ☞ Catherine BERTHOMIEU, Cyrille FORESTIER, Eric QUÉMENEUR et Alain VAVASSEUR ont donné une conférence dans le cadre de la journée scientifique « Toxicologie Nucléaire Environnementale et Humaine » au Muséum National d'Histoire Naturelle, le 18 septembre 2009.
- ☞ Laurent NUSSAUME (SBVME/LBDP) a été invité au Max Planck de Cologne pour donner une conférence sur le phosphate.
- ☞ Gilles PELTIER est invité pour une conférence à Roscoff le 21 Octobre et à un workshop exploratoire du CIESM sur les Biotechnologies Marines (Split, Croatie, 17-19 Septembre).
- ☞ Laurent COURNAC a été invité pour une conférence à l'Arizona State University le 19 septembre 2009.
- ☞ Dimitri TOLLETER, Gilles PELTIER, Dominique RUMEAU et Pascal REY sont conviés au "Second International Photosynthesis Workshop" à Bilch (Allemagne) les 12-13 octobre 2009.
- ☞ Jean ARMENGAUD a été invité à la 18^{ème} conférence internationale de Spectrométrie de Masse (Bremen, Allemagne, 30 Aout au 4 septembre) ainsi qu'à l'Institut de Génomique d'Evry (23 juin).
- ☞ Pierre PAROT a donné une conférence au "1st Word Conference on Physico-chemical Methods in Drug Discovery and Development" (Croatie, Rovinj, 27 septembre au 1^{er} Octobre).
- ☞ Alain DEDIEU a été invité à donner une conférence au congrès "Spectrométrie de Masse et Analyse Protéomique 2009" (Dijon, France, 14-17 septembre).
- ☞ Michel HAVAUX a donné une conférence dans le cadre du "2009 Botanists Meeting" à Leipzig (Allemagne), le 8 septembre 2009.

Rencontres Cadarache-Jeunes



Les 4 et 5 juin 2009, deux cents élèves de 3^{ème} provenant de 20 collèges de la région PACA (Corse comprise) et désireux de suivre un parcours scolaire scientifique ont été accueillis dans le cadre des désormais traditionnelles « Rencontres Cadarache-Jeunes ».



Vingt de ces collégiens ont été pris en charge par des tuteurs bienveillants du SBVME qui leurs ont consacré deux demi-journées en laboratoire. Un grand merci donc à Carole Arnaud, Virginie Chapon, Mathilde Clément, Gilles De Luca, Sandra Prévéral, Florie Reynaud, Sandrine Sauge-Merle pour leur implication.

Le rendez-vous est d'ores et déjà pris par les collégiens pour l'an prochain !



Ils nous rejoignent...



Souhaitons la **bienvenue aux nouveaux arrivants** :

François ROUSSET (CDD sur contrat IMAPLANT) au **GRAP**, Alice AVELLANEDA (stagiaire école d'ingénieur), Mathilde CLEMENT (CDD CNRS) et Etienne DELANNOY (post-doc contrat ANR) au **LBDP**, Frédéric BEISSON (chercheur CNRS, mutation), Yonghua LI (recrutée CEA), Rémy PUPPO (ingénieur CNRS à 80%) et Miriam SCHULTZ-RAFFELT (post-doc) au **LB3M**, Bruno ALLAINMAT (post-doc ANR AgingNano&Troph) et Nathalie BYRNE (post-doc ANR AgriElec) au **LEMIRE**, Tomasz SKRZYPCZAK au **LEMP**, Gregory BERNARD (stagiaire UTC) au **LEMS**, Christophe LALOI (recruté Maître de conférences) au **LGBP**, Joseph CHRISTIE DE OLEZA (post-doc, bourse de la Fondation Ramon Areces) au **LBSP**, Céline THIZON (ingénieur CDD NRBC), Pauline GUERAUD (technicienne CDD NRBC) et Céline DELCAMBRE (technicienne CDD SPI-Bio, rattachée au programme FIDGI) au **LDCAE**, Agnès HAGEGE (chercheur CNRS, mutation) au **LEPC/LIPM** et Mathieu FISICHELLA (post-doc ANR "AgingNano&Troph) au **LEPC**.

Séminaires de l'iBEB



- **20 octobre 2009 à 11h** au SBVME : **Benoit PINSON** (Institut de Biochimie et Génétique Cellulaires, Bordeaux). "Sensing du phosphate inorganique par des mécanismes moléculaires multiples chez *Saccharomyces cerevisiae*".
- **15 octobre 2009 à 14h** au SBVME : **Geoff FUCILE** (Genome Biology & Bioinformatics Collaborative Program University of Toronto, Canada). "Functional genomics of the plant shikimate kinase superfamily". Invité par Gilles PELTIER.
- **9 octobre 2009 à 11h** au SBTN : **May MORRIS** (CNRS, CRBM, Montpellier). "Original Biosensor Strategy for Imaging Cell Cycle Regulators in Living Cells". Invitée par Christian GODON.
- **31 juillet 2009 à 11h** au SBVME : **Benjamin PERET** (Centre for Plant Integrative Biology, University of Nottingham, UK). "Building a regulatory network for lateral root emergence". Invité par Laurent NUSSAUME.
- **20 juillet 2009 à 11h** au SBVME : **Lies MAES** (University Ghent, Flanders Institute for Biotechnology, Department of Plant Systems Biology). "Phytohormonal regulation of trichome formation in model and medicinal plants". Invitée par Thierry DESNOS.
- **7 juillet 2009 à 11h** au SBTN : **Germain GILLET** (IBCP, UMR 5086, Lyon I). "Rôle des protéines Bcl-2 dans la transformation néoplasique et développement embryonnaire précoce des vertébrés: la contribution particulière du poisson zèbre".
- **25 juin 2009 à 11h** au SBVME : **Richard CHRISTEN** (Laboratoire de Biologie Virtuelle, UMR 6543). "Les nouvelles méthodes de séquençage. Quelles sont les solutions pour traiter plus d'un million de séquences produites par jour?". Invité par Virginie CHAPON.
- **25 juin 2009 à 11h30** au SBTN : **Frédéric HALGAND** (UMR 6175 Nouzilly & UPR 9036 Université Aix Marseille). "Avancées et défis en spectrométrie de masse appliquée à la biologie structurale : à la recherche des modifications chimiques et du polymorphisme protéique". Invité par Jean ARMENGAUD.
- **23 juin 2009 à 14h** au SBVME : **Sandra TANZ** (ARC Centre of Excellence in Plant Energy Biology, University of Western Australia). "The evolution of C4 photosynthesis – an insight from carbonic anhydrase". Invitée par Bernard GENTY.
- **23 juin 2009 à 11h** au SBVME : **Pierre PONCELET** (Master pro Métiers du film documentaire, Aix-Marseille I). "Un exemple de transfert de technologie à l'iBEB : la bioremédiation des effluents phytopharmaceutiques". Invité par Daniel GARCIA.
- **12 juin 2009 à 14h** au SBVME : **Miriam SCHULTZ-RAFFELT** (Université de Freiburg, Allemagne). «Dissection of the heat stress response in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*». Invitée par Gilles PELTIER..

Retrouvez la liste à jour sur :
<http://www-dsv.cea.fr/ibeb/seminaires>

Agenda



Soutenance de thèse et HDR

- **Lionel TARRAGO** (SBVME/LEMP) soutiendra sa thèse intitulée "Les méthionine sulfoxyde réductases de type B plastidiales d'*Arabidopsis thaliana* : mécanismes de régénération par les thiorédoxines et les glutarédoxines, cibles potentielles et rôles physiologiques" le **17 novembre 2009** à 14h au Château de Cadarache.
- **Marie LOCARD-PAULET** (SBTN/LBSP) soutiendra sa thèse intitulée "Etude des trois GTPases à boucle GPN humaines : mise en évidence du rôle pivot de hGPN1" le **9 novembre 2009** à 13h30 au Visiatome de Marcoule.
- **Cyrille DREYFUS** soutiendra sa thèse intitulée "Synthèse enzymatique d'un nouveau métallophore apparenté à la nicotianamine : arrêt sur images" le **26 octobre 2009** à 14h au Bât. 120 à Cadarache.
- **Mathieu BAUDET** (SBTN/LBSP) soutiendra son diplôme de 3ème cycle intitulé "Identification de peptides N-terminaux de protéines à des fins d'annotations génomiques par une approche de protéogénomique innovante - Application au protéome de *Deinococcus deserti*" le **1er octobre 2009** à l'Université Joseph Fourier, Grenoble.
- **Nathalie LEONHARDT** (SBVME/LEMS) soutiendra son HDR intitulée "Identification et caractérisation des éléments impliqués dans le contrôle du potentiel de membrane de la cellule de garde" le **28 septembre 2009** à 14h au Château de

Cadarache.

- **Vincent CHOCHOIS** (SBVME/LB3M) soutiendra sa thèse intitulée "Implication des réserves carbonées dans la photoproduction d'hydrogène chez l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*" le **25 septembre 2009** à 14h au Château de Cadarache.
- **Arjan DE GROOT** (SBVME/LEMIRE) a soutenu son HDR le **1 juillet 2009** à 14h au Château de Cadarache.

Rencontres Scientifiques

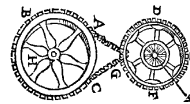
- **Colloque sur les Métaux en Neurobiologie** : le 24 septembre 2009 à Grenoble sous l'égide de l'Institut des Métaux en Biologie de Grenoble. Inscription gratuite mais obligatoire auprès d'alexandre.bouron@cea.fr.
- Le laboratoire TIRO participe à l'organisation du workshop « **Molecular Imaging and Biology in Oncology** » qui se déroulera les 22-23 janvier 2010 à Nice. Le programme sera bientôt disponible sur le site de TIRO (<http://mednuc.unice.fr/tiro/>).
- Workshop **PIG5 (Plasticité et Instabilité des Génomes)** les 5 et 6 novembre 2009 à l'amphithéâtre INSTN/ICSM de Marcoule.
- 5^{ème} **rencontre annuelle des Technologies pour la santé** le 6 octobre 2009 à Saclay (INSTN).
- 1^{er} colloque annuel de l'**ITMO Technologies pour la santé**, le 23 octobre 2009 à la Maison de la Chimie, Paris VII. (<https://its.inserm.fr/>).

Contrats



- Hélène JAVOT (LBSP) a obtenu une bourse de réintégration Marie Curie pour 4 ans et un contrat interface chimie biologie du CNRS.
- Thierry POURCHER (TIRO) a décroché un financement INCa (2010-2012) sur le projet « Potentialization of iodine 131 metabolic radiotherapy after gene transfer of sodium/iodide symporter » en collaboration avec l'équipe de K. Benihoud (coordinateur, IGR, Villejuif) et C. Dupuy (IGR, Villejuif).
- L'ANR blanche intitulée BiCAB (Biocatalyseurs artificiels à deux composantes), coordonnée par T. TRON, et dans laquelle D. RUMEAU (LEMP) est partenaire a été retenue pour financement.
- Le LEMIRE participe au contrat ANR DéfiH12 (2009-2013) qui se propose de développer une technologie de production de bio-hydrogène par électrolyse microbienne (coordinateur ML DELIA). Ce projet est labélisé par le pôle CAPENERGIES. Le LEMIRE est aussi impliqué dans un projet collaboratif européen NEPHH du FP7 (2009-2012, Nanomaterials related environmental pollution and health hazards throughout their life cycle). Coordinateur : Juan ANTONIO GASCÓN.
- Le LDCAE participe à l'ANR GENEASE (Equipement d'Analyse et de Surveillance de l'Environnement par voie GÉNétique) qui a été retenue pour financement. Coordinateur : William Vivien (Bertin Technologies).

Brevets



Dreyfus C, Cavelier F, Martinez J, Laoure M, Arnoux P, Pignol D. Métallophore dérivé de nicotianamine et ses procédés de fabrication. Numéro de dépôt FR0901574.

Suggestions de lecture et de surf...



- Un **Insight** de la revue **Nature** consacré aux **métalloprotéines** : vol. 460, n° 7257, pp 813–862.
- Un labo "santé des plantes" inauguré par **Bayer CropScience**. Dix millions d'euros, c'est la somme investie depuis deux ans par Bayer CropScience dans son centre de recherche de La Dargoire à Lyon, pour moderniser les équipements existants et ouvrir un laboratoire « santé des plantes ». Pour en savoir plus : http://www.terre-net.fr/Obs_actu/article-216-56059.html.
- **Classement Mondial des Universités**. A l'issue d'un appel d'offre lancé en novembre 2008 par la commission européenne, un consortium de sept entités européennes s'est vu confier le 2 juin 2009, la mise au point et l'essai de la faisabilité d'un classement multidimensionnel des universités à l'échelle mondiale. Pour en savoir plus : <http://www.educpros.fr/detail-article/h/45b6fdb36f/a/classement-mondial-des-universites-la-commission-europeenne-le-confie-au-consortium-cherpa.html>.

Vie des laboratoires...



- L'iBEB a adhéré à **trois pôles de compétitivité** qui offrent des services et peuvent labelliser des projets ANR. Il s'agit des pôles :
 - CAPENERGIES : <http://www.capenergies.fr/>
 - MER PACA : <http://www.polemerpaca.com/>
 - EUROBIOMED : <http://www.eurobiomed.org/>
- Le LBC a reçu son tout nouveau **robot de cristallisation** (baptisé IGOR, disponible au Bât. 177, salle de cristallisation) tandis qu'il attend toujours avec impatience l'arrivée de GRICHKA (caméra automatisée de suivi des expériences de cristallisation).
- **Objectif Biotech** (cf. lettre de l'iBEB n°2, p. 5) a organisé le 27/07 une table ronde sur « la relecture de CV, la lettre de motivation et FAQ sur les entretiens d'embauche ». Cette table ronde a accueilli Vincent DECITRE, consultant chez Michael Page (Cabinet de conseil en recrutement de cadres). C'était la dernière table ronde de l'année couronnant au total 4 événements en 5 mois. Pour en savoir plus, contacter [Benjamin Néel](#) (SBTN/LEPC).
- Le laboratoire Interactions et Reconnaissance Moléculaires (SBTN) a organisé la deuxième école internationale d'été "**AFM Bio-Med Summer School Marcoule 2009**" qui a eu lieu du 14 au 18 septembre dans les nouveaux locaux de l'INSTN/ICSM à Marcoule. L'école a accueilli 17 stagiaires européens et nord-américains. Les intervenants, leaders européens dans le domaine de la Microscopie à Force Atomique appliquée à la biologie et la nanomédecine, ont dispensé plus de 20 heures de conférences spécialisées avec un souci pédagogique constant qui a été fortement apprécié par les participants. Cette école d'été a permis à des novices en AFM, mais aussi à des jeunes chercheurs expérimentés, de parfaire leurs connaissances dans les applications biologiques de l'AFM. Aux trois machines d'enseignement (AFM Caliber) plus un AFM Multimode récemment acquis par le consortium ICSM/CEA-Marcoule/DSV, venaient s'ajouter en démonstration un autre Multimode et un Bioscope II Catalyst avec la collaboration de Veeco Instruments. La dizaine de Travaux Pratiques et les conférences plénières données, contribuent à la reconnaissance de ce pôle comme un leader européen dans le domaine de la formation aux techniques de pointe de l'AFM et de ses applications aux sciences du vivant et à la nanomédecine (pour en savoir, <http://afmbiomedsummerschool.org>).
- La réunion annuelle du GDR BioH2, impliquant le LB3M, aura lieu du 5-8 octobre à La Londe Les Maures.



Où en est le choix du logo pour l'Institut ?

Nous avons reçu 24 propositions de logo avant l'été. Quarante quatre d'entre vous se sont prononcés par vote pour l'un de ces logos. A l'issue de ce vote, les deux logos ci-dessous restent en course. Retourner-moi avant le 1^{er}



Logo 1



Logo 2

DOSSIER THÉMATIQUE

Développements récents de l'imagerie cellulaire et in vivo à l'iBEB

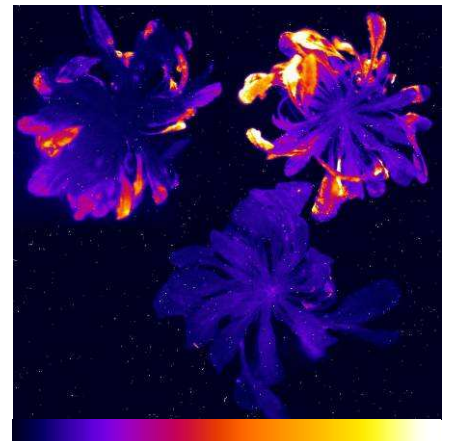
Les techniques d'imagerie cellulaire permettent de révéler de manière non invasive des cellules/tissus/organes impliqués dans les grandes fonctions biologiques (ou pathologiques) des organismes vivants. Nombre de ces techniques ont vu un développement foudroyant durant ces 15 dernières années, impliquant non seulement des bases physiques et médicales mais également de la biologie cellulaire et moléculaire, de la chimie, de l'engineering des protéines, le tout associé aux progrès de l'informatique et des moyens d'analyse. Dans ce dossier thématique (pages 6-8), trois laboratoires (SBVME/LEMP, SBTN/TIRO, SBVME/LBDP) présentent quelques-unes des techniques d'imagerie cellulaire remarquables, qu'ils utilisent et/ou développent, et qui démontrent leurs impacts non seulement en recherche fondamentale mais également en recherche appliquée. Un second dossier thématique dédié à l'imagerie, sous un angle plus "moléculaire" verra le jour dans les mois qui viennent.

Approches d'imagerie fonctionnelles "non invasives"

Les signaux radiatifs des plantes (fluorescence, émission IR, luminescence) permettent d'aborder quelques-unes des fonctions des plantes de façon « non-invasive » et offrent des solutions pertinentes pour une démarche d'imagerie fonctionnelle. Ainsi, les variations de rayonnement infrarouge (IR) émis par la feuille peuvent être utilisées pour quantifier les variations de la transpiration et de l'ouverture stomatique. La luminescence, produite par l'oxygène singulet et les groupements carbonyles à l'état triplet renseigne sur les changements de l'état de peroxydation des lipides. Deux exemples d'imagerie de ces signaux et leurs applications au SBVME sont présentés : l'imagerie IR (thermographie) utilisé pour des cribles d'altération de fonction et l'imagerie de luminescence pour caractériser les dommages foliaires consécutifs à un stress photo-oxydant.

Contacts : michel.havaux@cea.fr et bernard.genty@cea.fr

Autoluminescence de plantules d'*Arabidopsis thaliana* après un traitement photo-oxydant (3 j d'exposition à un fort éclairement ($1300 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) à 10°C). Les deux plantes supérieures dont l'émission spontanée de photons est élevée par rapport au sauvage (en bas) correspondent à un mutant (*vtc2*) photosensible, déficient en ascorbate. Le mutant, photosensible présente une forte luminescence spontanée, ce qui indique une forte peroxydation lipidique (Havaux *et al.*, 2006).



Imagerie infra-rouge de plantules d'*Arabidopsis thaliana* adaptées à l'obscurité. Le mutant *ost2-2* (droite) présente une température de rosette environ 3°C inférieure à celle du sauvage (gauche). Cette propriété a permis son isolation par un crible utilisant l'imagerie infra-rouge. Chez ce mutant, les stomates sont ouverts à l'obscurité ; ce phénotype atypique est dû à l'activation constitutive d'une ATPase des cellules de garde des stomates (Merlot *et al.*, 2007).

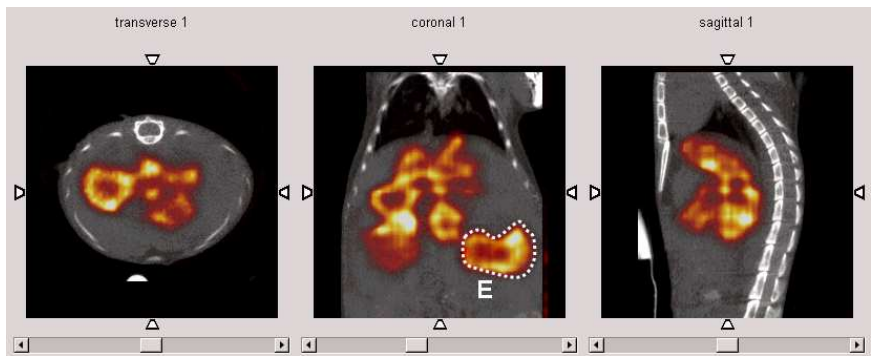
Exploration fonctionnelle non-invasive par imagerie SPECT

L'imagerie SPECT est couramment utilisée dans l'exploration fonctionnelle de la thyroïde, des os, du cœur ou du cerveau. Elle permet de suivre l'accumulation d'un radiotracteur émetteur gamma. Ainsi, la scintigraphie thyroïdienne aide aux diagnostics des cancers thyroïdiens en détectant des pertes de capacités d'accumulation d'iode associées à la transformation tumorale des thyrocytes. Le SPECT connaît un développement récent en recherche. Grâce à un financement État/Région obtenu avec INRIA, le laboratoire TIRO vient de s'équiper d'une caméra micro-SPECT couplant l'imagerie SPECT et celle d'un scanner X.

L'iode est un élément majeur en radio-toxicologie comme l'illustre l'augmentation des cancers thyroïdiens observée dans les régions proches de Tchernobyl après l'accident de 1986. La caméra SPECT permet d'étudier *in vivo* le métabolisme thyroïdien de l'iode chez la souris et d'explorer

ainsi de nouvelles stratégies pour optimiser les contre-mesures face à une personne contaminée par des radioisotopes de l'iode.

Le clonage du symporteur sodium-iode (NIS) qui catalyse l'accumulation d'iode dans les thyrocytes a permis son utilisation comme rapporteur en imagerie SPECT et comme gène suicide associé à des techniques d'irathérapie. Un autre axe du laboratoire TIRO consiste à utiliser le NIS comme rapporteur sur des modèles précliniques les plus proches possible des pathologies humaines. L'expression du NIS permet de suivre l'implantation et le développement des métastases sur chaque animal puis d'étudier les effets de stratégies thérapeutiques sur la régression des cellules tumorales.



Images de fusion SPECT-CT (coupes transverse, coronale (frontale) et sagittale) d'un foie poly-métastatique de souris observé 45 jours après transplantation de cellules de cancer du colon humain (lignée HT29 exprimant mNIS). L'estomac (E) est localisé par les lignes pointillées blanches sur la coupe coronale. Une accumulation physiologique du radiotracteur ($^{99m}\text{TcO}_4$) est observée au niveau de l'estomac. Seules les cellules tumorales sont à l'origine du signal dans le foie.

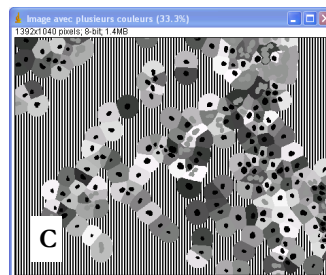
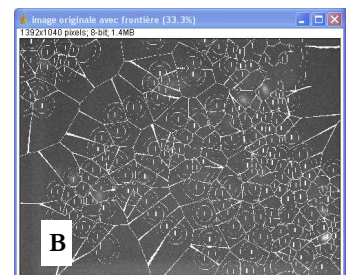
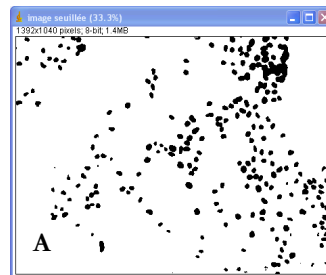
Contacts : philippe.franken@unice.fr et pourcher@unice.fr

Imagerie cellulaire et analyse automatisée

L'imagerie cellulaire associée à une analyse automatisée est en plein essor. Elle permet notamment de réaliser des études de drogues sur des phénomènes biologiques multiparamétriques dans une population de cellules en culture. Plusieurs projets du laboratoire TIRO font appel à cet outil dans le cadre par exemple de l'étude de l'effet antiprolifératif du suppresseur tumeur SLC5A8 ou de la régulation de la localisation subcellulaire du symporteur sodium-iode.

Cette technique requiert le développement d'outils d'analyses adaptés. Ainsi, Jérôme Henriques, informaticien de l'équipe, a développé un **plugin pour le freeware ImageJ** qui permet d'analyser automatiquement de grandes séries d'images (fluorophores et

champs multiples), d'identifier les noyaux des cellules, de prédire leurs cytoplastes, de les trier en fonction de différents marqueurs et de déterminer leur état dans le cycle cellulaire. L'utilisateur fixe sur un champ les paramètres du traitement et visualise les résultats de son paramétrage puis l'ensemble des images du répertoire est ensuite traité. D'autres fonctions sont en cours de développement : identification des cellules sur des images de contraste de phase, analyse de co-localisations, prédiction des nouvelles zones de quantification (membranaire), nouveaux critères de classement (surface, homogénéité des structures,...), nouveaux formats de fichier en sortie (html, xml, excel, images avec résultats).



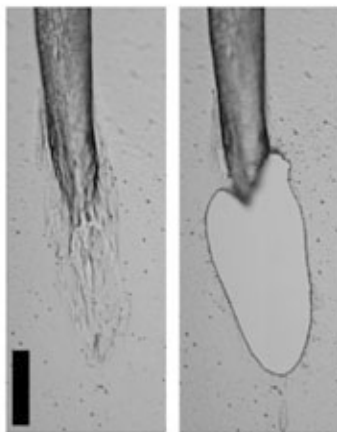
Différents stades du fonctionnement de TIRO Plugin : A) Sélection des noyaux ; B) délimitation des cellules ; C) seuillage des cellules positives pour la GFP.

Contacts : jerome.henriques@unice.fr et pourcher@unice.fr

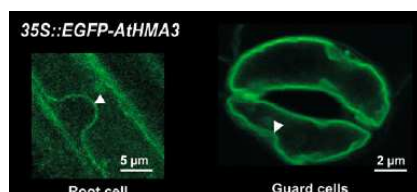
Plateau de microscopie et microdissection laser

Le Laboratoire de Biologie du Développement des Plantes (SBVME/LBDP) héberge un plateau de microscopie ouvert à tous les membres de l'iBEB. Les équipements sont en libre-service, sous réserve de suivre au préalable les formations associées (pour plus d'information, contacter Hélène Javot). Sur ce plateau sont rassemblés des outils d'imagerie de routine (microscopes et loupes binoculaires équipés de caméra et de fluorescence), mais aussi des microscopes plus sophistiqués : un microscope confocal, un système d'analyse FLIM et un microdissecteur laser (détaillés ci-dessous). Pour compléter cet ensemble, des équipements d'analyses histologiques ont été installés : microtomes, robot InSituPro pour la réalisation automatisée d'hybridation *in situ* ou d'immunodétection, etc.

Récemment, notre plateau a accueilli le microscope droit Leica LMD6000 équipé pour la **microdissection laser**. Pour l'observation des échantillons, ce microscope dispose d'une caméra analogique, d'une caméra numérique, de filtres de fluorescence et système d'illumination approprié, et enfin de prismes pour l'imagerie champ clair, DIC, etc. Grâce à un puissant faisceau UV (355 nm) et à une platine motorisée, il est possible de découper et trier des cellules ou tissus peu épais de manière extrêmement précise et rapide. Ces cellules peuvent ensuite être exploitées pour de multiples applications, telles que des analyses transcriptomiques, protéomiques, ... Grâce à cet outil, le LBDP a démontré le rôle des premières couches de cellules de la pointe racinaire (coiffe) dans la perception de la carence en phosphate chez *Arabidopsis* (Svistonoff *et al.*, 2007 *Nature Genetics*). En disséquant ces cellules, les membres de ce laboratoire ont confirmé que les comportements distincts de deux écotypes face à la carence en phosphate pouvaient être attribués à l'expression différentielle du gène *LPR1* au niveau de la coiffe.

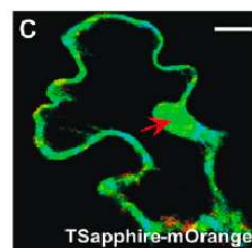


Le **microscope confocal**, un Leica SP2 avec système AOTF et AOBS, est monté sur un microscope inversé DM IRE2. Il est équipé de quatre lasers (argon, diodes 405 et 561 nm, HeNe 633 nm) offrant 8 raies d'excitation laser. Grâce au système AOBS, l'utilisateur peut choisir au nm près, la zone du spectre d'émission qu'il souhaite collecter. A l'aide de ce microscope, des chercheurs du LEMS ont déterminé la localisation vacuolaire du transporteur de métaux lourds AtHMA3 d'*Arabidopsis* et son rôle dans l'accumulation de cadmium à l'intérieur de la vacuole (Morel *et al.*, 2009, *Plant Physiol.*)



Ce même microscope est couplé à un module TCSPC Becker Hickl permettant de faire des **acquisitions FLIM** (Fluorescence Lifetime Imaging). Ce mode d'imagerie repose sur l'utilisation d'un laser pulsé (une diode laser 405 nm) qui permet de caractériser les fluorochromes sur la base du temps de décroissance de leur fluorescence. Les propriétés de temps de décroissance de fluorochromes peuvent être modu-

lées par la proximité avec d'autres molécules fluorescentes. De ce fait, les mesures de temps de décroissance sont souvent exploitées dans des études d'interactions protéine-protéine. Pour favoriser l'utilisation de cette technique dans le domaine du végétal, des membres du LBDP ont identifié un couple de fluorochromes (T-Sapphire et mOrange) adapté aux études d'interactions entre protéines chez les plantes (Bayle *et al.*, 2008 *Plant Physiol.*). Ils ont de plus démontré que l'utilisation de cet outil pouvait être étendue à l'étude de multiples compartiments cellulaires.



À l'avenir, le plateau de microscopie devrait s'enrichir d'un système dédié aux mesures de bioluminescence à l'échelle cellulaire (basé sur la combinaison d'un microscope avec une caméra hautement refroidie). De nouvelles possibilités et collaborations en perspective !

Contacts : helene.javot@cea.fr et laurant.nussaume@cea.fr.

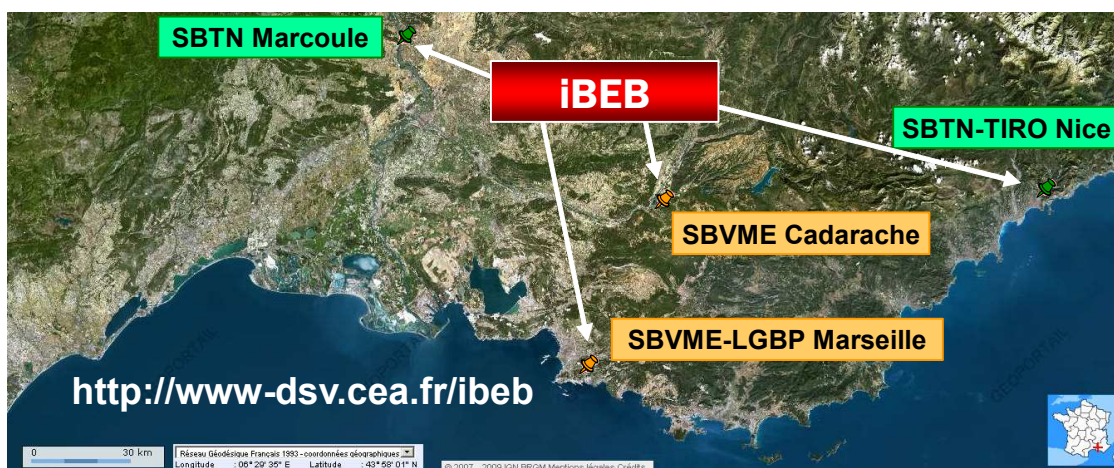
Institut de Biologie Environnementale et Biotechnologie

Service de Biochimie et Toxicologie Nucléaire

CEA Marcoule
30207 Bagnols-sur-Cèze
04-66-79-19-01

Service de Biologie Végétale et de Microbiologie Environnementales

CEA Cadarache
13108 St Paul lez Durance
04-42-25-27-53



Les laboratoires de l'iBEB

SBTN Marcoule

Eric QUEMENEUR

[Laboratoire de Biochimie des Systèmes Perturbés \(LBSP\)](#)

[Laboratoire de Détection et de Caractérisation des Agents du Risque Environnemental \(LDCAE\)](#)

[Laboratoire d'Étude des Protéines Cibles \(LEPC\)](#)

[Laboratoire d'Ingénierie Cellulaire et Biotechnologique \(LICB\)](#)

[Laboratoire des Interactions et Reconnaissance Moléculaires \(LIRM\)](#)

[Laboratoire des Transporteurs en Imagerie et Imagerie en](#)

SBVME Cadarache

Thierry HEULIN

[Laboratoire de Bioénergétique et Biotechnologie des Bactéries et Microalgues \(LB3M\)](#)

[Laboratoire de Bioénergétique Cellulaire \(LBC\)](#)

[Laboratoire de Biologie du Développement des Plantes \(LBDP\)](#)

[Laboratoire d'Écologie Microbienne de la Rhizosphère et d'Environnements Extrêmes \(LEMIRE\)](#)

[Laboratoire d'Écophysiologie Moléculaire des Plantes \(LEMP\)](#)

[Laboratoire des Échanges Membranaires et Signalisation \(LEMS\)](#)

[Laboratoire de Génétique et Biophysique des Plantes \(LGBP\)](#)

Directeur de la Publication

Thierry HEULIN

Comité de Rédaction

Cyrille FORESTIER, Gilles PELTIER, Éric QUEMENEUR

Correspondants Rédaction

W. ACHOUAK, J. ARMENGAUD, L. BELLANGER, C. BERTHOMIEU, B. GENTY, F. GIBIAT, L. NUSSAUME, J.L. PELLEQUER, G. PELTIER, D. PIGNOL, T. POURCHER, C. ROBAGLIA, V. TANCHOU, A. VAVASSEUR, C. VIDAUD

Abonnement et questions

[Cyrille FORESTIER](#)