

Sujet du stage M2

Titre : ***Développement de la microscopie U-ExM sur la plante modèle Arabidopsis thaliana***

**Version Française :**

L'équipe « Dynamique membranaire dans le trafic intra et inter-cellulaire » (DYMETiiC) du Laboratoire de Biogenèse Membranaire (LBM), étudie la dynamique des compartiments intercellulaires membranaires, l'organisation spatiale et temporelle de ses nanodomains et leurs rôles dans l'établissement de la polarité cellulaire et la régulation de la communication intercellulaire chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. La racine d'*Arabidopsis* présente une organisation cellulaire complexe, et la présence de la paroi cellulosique rend parfois difficile la pénétration de substances chimiques ou pharmacologiques et confère une certaine résistance à la pression. L'étude de ces processus cellulaires, vitaux pour les plantes, nécessitent une résolution spatiale à l'échelle nanoscopique. Par conséquent, le développement de techniques d'imagerie novatrices est indispensable pour décrire finement l'ensemble de ces mécanismes dans le temps et l'espace sur un tissu délicat à imager. Nous avons récemment optimisé au laboratoire un protocole d'expansion classique dit « proExM » (Grison et al., *unpublished*).

En combinant l'expertise du LBM dans le domaine végétal et l'expertise du Bordeaux Imaging Center en microscopie super-résolution, l'objectif du projet est de développer l'U-ExM et la microscopie d'expansion itérative applicable au modèle végétal (Tillberg et al, *Nat Biotech* 2016). Ces méthodes très récentes permettent, après des étapes d'inclusion dans un gel d'acrylamide, de digestion, puis d'expansion à l'eau, d'accroître mécaniquement la taille de l'échantillon tout en conservant l'orientation spatiale des molécules et l'ultrastructure cellulaire (facteur 10). La combinaison de la microscopie d'expansion avec la microscopie haute résolution permettrait d'obtenir des résolutions de mois de 2 nm en fluorescence.

Dans le cadre de ce projet, en utilisant un large éventail de marqueurs cellulaires fluorescents, l'étudiant-e devra explorer les effets de l'expansion itérative sur la racine en termes de distorsion, puis démontrer le gain de résolution apporté par l'expansion couplée à la microscopie super-résolution telle que le STED et le FLIM-STED.

Le candidat sera supervisé par Magali Grison au LBM et Mónica Fernández Monreal au BIC.

**English version : *Development of U-ExM (expansion microscopy) on the model plant Arabidopsis thaliana***

The DYMETiiC team studies the dynamic of inter & intra-cellular membrane compartments, the spatial and temporal organization of membrane nanodomains and their role in the establishment of cell polarity, and the regulation of intercellular communication in the model plant *Arabidopsis thaliana*. The *Arabidopsis* root tip present a complex cellular organization, and the presence of the cellulosic wall sometimes makes it difficult for chemical or pharmacological substances to penetrate and confers a certain resistance to pressure. The study of these cellular processes, vital for plants, requires spatial resolution at the nanoscopic scale. The development of innovative cutting-edge imaging techniques is essential to finely describe

all these mechanisms in time and in space in such a difficult tissue. We have recently optimized a protocol of expansion microscopy “proExM” (Grison et al., *unpublished*).

By combining the expertise of the LBM in the plant field and the expertise of the Bordeaux Imaging Center (BIC) in super-resolution microscopy, the objective of the project is to develop a robust method of expansion microscopy that we can apply to the plant model (Truckenbrodt et al, *Nat Protocol* 2019). This very recent method allows, after successive acrylamide gel embedding, digestion and expansion steps, to mechanically increase the size of the sample while maintaining the spatial orientation of the molecules and the cellular ultrastructure (factor 10). In addition, its combination with high resolution microscopy would attend resolutions of less than 2 nm.

In this project, by using a wide range of fluorescent cell markers, the student will explore the effects of expansion on the root in terms of distortion and then quantify the gain in resolution when combined with super-resolution microscopy such as STED and FLIM-STED.

The candidate will be supervised by Magali Grison at LBM and Mónica Fernández Monreal at BIC.