

Newsletter IDA



EDITO - par Joseph ZYSS

La tenue en février dernier de la journée IDA aura été comme chaque année un temps fort avec la présentation des projets à mi-parcours. La variété des thèmes et l'imbrication des disciplines attestaient de la vitalité et de l'originalité de nos activités allant des biocapteurs photoniques à différentes modalités et échelles spatio-temporelles en imagerie «nano-bio», ou encore des nouveaux nano-matériaux fonctionnels à leurs procédés d'élaboration. L'importance majeure accordée à la biophotonique et aux nano-(bio)matériaux dans le cadre de la conférence annuelle de l'OSA qui se tient actuellement à Munich et où l'IDA est fortement représenté par ses physiciens, nous conforte dans nos choix scientifiques. Afin de faire mieux ressortir la reconnaissance dont nous bénéficions, je compte proposer la mise en place prochainement d'un conseil scientifique de l'IDA constitué de personnalités au plus haut niveau international des disciplines constitutives, qui nous conseillera et nous critiquera tout en faisant mieux ressortir dans le paysage local le remarquable positionnement international de nos activités sur des bases principalement scientifiques. De tels critères sont les seuls qui valent aux yeux des équipes de l'IDA tout en étant susceptibles de fournir des fondations profondes et durables à la définition d'une ENS Cachan encore largement en quête d'identité et pour laquelle une problématique de positionnement lui devient urgente face aux grands défis présents et à venir.

An important milestone in the life of the D'Alembert Institute has been the yearly mid-term project presentation day held last February. The variety of themes and the cross-linking between disciplines bore witness of the liveliness and originality of our activities over a broad scope, going from photonic biosensors to different modalities and time-space scales in bio-imaging, and from nano-biomaterials to their elaboration methods. The focus on biophotonics and nano-biomaterials in the frame of the annual European conference of OSA held annually in this mid-May period where IDA has been massively represented via its physicists, confirms the relevance of our scientific orientations. In order to further sustain our remarkable international image and world-wide network of collaborations, I will propose to set-up in the near future an IDA scientific committee, composed of international experts at the highest international level, so as to assist us and surely criticize us when needed, while enlightening our way onto the future on the primary basis of scientific criteria. These are indeed the only relevant guidelines that the IDA personnel is ultimately willing to follow and which can also contribute as solid and long lasting foundations to an ENS Cachan still in search of identity and character. This existential search becomes urgent in view of imminent challenges to be faced.

EN BREF

Séminaires

LBPA - «HIV-1 Ribonuclease H inhibitors: multiple strategies for a still under explored target»
Enzo TRAMONTANO (Laboratory of Molecular Virology, University of Cagliari, Cagliari, Italy) - 07/02/13

LBPA - «Molecular basis of the targeted integration of the yeast retrotransposon Ty1 into Pol III transcribed genes»
Pascale LESAGE (Hôpital St Louis, Paris) - 08/02/13

IDA - Journée IDA - 12/02/13

LBPA - «Modeling slow diffusion and relaxation in biomolecular systems - insights from molecular simulation»
Gérard KNELLER (Centre de Biophysique Moléculaire, Orléans) - 15/02/13

PPSM - Inauguration du Département de Chimie de l'ENS Cachan - 18/02/13

PPSM - «Criminalistique chimique - Quel rôle à jouer pour les nouvelles technologies?»
Pr Andy BECUE (Institut de police scientifique, Université de Lausanne, Suisse) - 20/02/13

LBPA - «Structural studies of the Pestivirus ribonuclease Erns: what kinetic sees that X-ray diffraction does not see»
François BONTEMS (Institut Pasteur, Paris) - 22/02/13

LPQM - «Characterization of hyperfine interaction between single electron and single nuclear spin in diamond assisted by quantum beat from the nuclear spin»

Jeung SHIM (Université de Dortmund, Dortmund, Allemagne) - 28/03/13

PPSM - 11^e Rencontres de Chimie Organique - 04/04/13

LBPA - «Energetics and kinetics of SNARE zippering with single molecule resolution»
Sylvain ZORMAN (Yale University, New Haven, USA) - 19/04/13

LBPA - «A butterfly effect in protein-protein interactions: How a single minute substitution can tip the selectivity balance in the ubiquitination pathway»

Adrien MELQUIOND (Utrecht University, Utrecht, The Netherlands) - 22/04/13



PUBLICATIONS

PPSM - « Fluorescent dyad for cooperative recognition of copper cation and halogen anion »
Yu, Y., Bogliotti, N., Maisonneuve, S., Tang, J. and Xie, J.
Tetrahedron Lett. vol: 54 (14), pp: 1877-1883, 2013

SATIE - « Investigation of ifosfamide nephrotoxicity induced in a liver-kidney co-culture biochip »
Choucha-Snouber, L ; Aninat, C ; Griscom, L ; Madalinski, G ; Brochot, C ; Poleni, PE ; Razan, F ; Guillozo, CG ; Legallais, C ; Corlu, A ; Leclerc, E
BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING Volume: 110
Published: FEB 2013

LPQM - « Chirality distribution in single walled carbon nanotube films by spectroscopic ellipsometry »
Battie Y., Jamon D., En Naciri A, Lauret J.-S., and Loiseau A.
Appl. Phys. Lett. 102, 091909 (2013)

PPSM - « Understanding the Spectroscopic Properties and Aggregation Process of a New Emitting Boron Dipyrromethene (BODIPY) »
Thanh Truc, V., Dvorko, M., Schmidt, E. Y., Audibert, J.-F., Retailleau, P., Trofimov, B. A., Pansu, R. B., Clavier, G. and Meallet-Renault, R.
J. Phys. Chem. C vol: 117 (10), pp: 5373-5385, 2013

LPQM - « Single-shot readout of multiple nuclear spin qubits in diamond under ambient conditions »
Dréau A., Spinicelli P., Maze J.-R., Roch J.-F., Jacques V.
Physical Review Letters, 2013 - APS

PPSM - « Spectroscopy of BODIPY in solid phase: crystal and nanoparticles »
Liao, YY ; Genot, V ; Meallet-Renault, R ; Vu, TT ; Audibert, JF ; Lemaistre, JP ; Clavier, G ; Retailleau, P ; Pansu, R
PHYSICAL CHEMISTRY CHEMICAL PHYSICS Volume: 15 Published: 2013

SATIE - « Micro-organism extraction from biological samples using DEP forces enhanced by osmotic shock »
Bisceglia E., Cubizolles M., Mallard F., Vinet F., François O. and Le Poulfue B.
Lab Chip, 2013, 13, 901-909 DOI: 10.1039/C2LC41128H

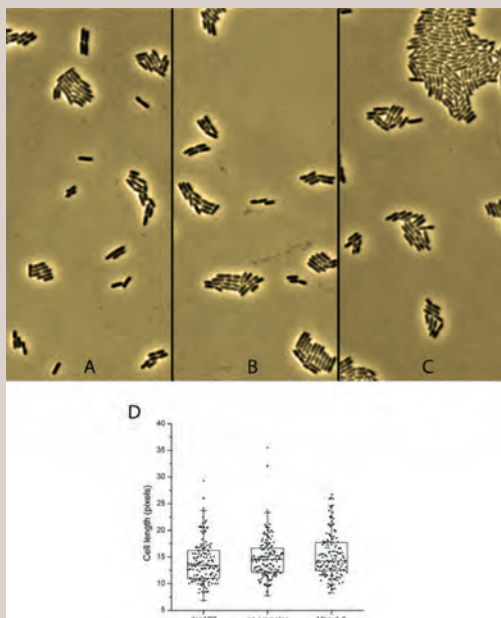
LBPA - « Microfluidic chemostat for measuring single cell dynamics in bacteria »
Z. Long, E. Nugent, A. Javer, Cicuta, B. Sclavi, M. Codentino Lagomarsino, K.D. Dorfman
Lab Chip, DOI:10.1039/C2LC41196B

PPSM - « Electrofluorochromism: from molecular systems to set-up and display »
Audebert, P. and Miomandre, F.
Chem. Sci. vol: 4 (2), pp: 575-584, 2013

LBPA - « Temperature-dependence of the DnaA-DNA interaction and its effect on the autoregulation of dnaA expression »

C. Saggiaro, A. Olliver and B. Sclavi

Biochem. J. (2013) 449 (333–341) (Printed in Great Britain) doi:10.1042/BJ20120876



Cell size as a function of promoter sequence on the pKK plasmid

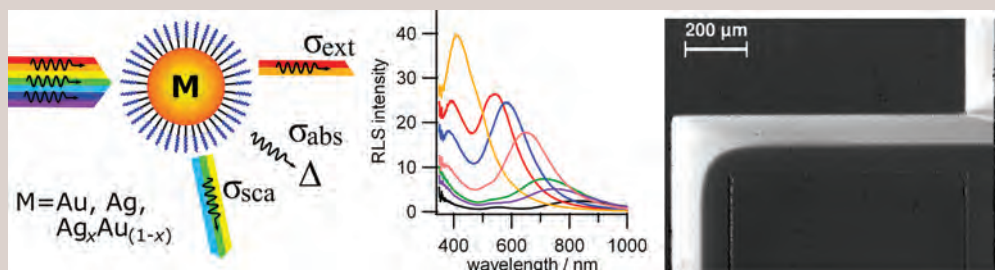
The DnaA protein is a key factor for the regulation of the timing and synchrony of initiation of bacterial DNA replication. The transcription of the dnaA gene in Escherichia coli is regulated by two promoters, dnaAP1 and dnaAP2. The region between these two promoters contains several DnaA-binding sites that have been shown to play an important role in the negative auto-regulation of dnaA expression. The results obtained in the present study using an in vitro and in vivo quantitative analysis of the effect of mutations to the high-affinity DnaA sites reveal an additional effect of positive autoregulation. We investigated the role of transcription autoregulation in the change of dnaA expression as a function of temperature. While negative auto-regulation is lost at dnaAP1, the effects of both positive and negative autoregulation are maintained at the dnaAP2 promoter upon lowering the growth temperature. These observations can be explained by the results obtained in vitro showing a difference in the temperature-dependence of DnaA-ATP binding to its high- and low-affinity sites, resulting in a decrease in DnaA-ATP oligomerization at lower temperatures. The results of the present study underline the importance of the role for autoregulation of gene expression in the cellular adaptation to different growth temperatures.

SATIE - « Resonant light scattering spectroscopy of gold, silver and gold-silver alloy nanoparticles and optical detection in microfluidic channels »

Navarro J. R. G and Werts M. H. V.

Analyst, 2013, 138, 583 DOI: 10.1039/c2an36135c

Dark field resonant light scattering by gold and silver nanoparticles enables the detection and spectroscopy of such particles with high sensitivity, down to the single-particle level, and can be used to implement miniaturised optical detection schemes for chemical and biological analysis. Here, we present a straightforward Optical spectroscopic methodology for the quantitative spectrometric study of resonant light scattering (RLS) by nanoparticles. RLS spectroscopy is complementary to UV-visible absorbance measurements, and we apply it to the characterisation and comparison of different types of gold, silver and gold-silver alloy nanoparticles. The potential of gold and silver particles as alternatives for fluorescent probes in certain applications is discussed. RLS spectroscopy is shown to be useful for studying analyte-induced gold nanoparticle assembly and nanoparticle chemistry, which can induce radical changes in the plasmonic resonances responsible for the strong light scattering. Furthermore, the feasibility of dark field RLS detection and quantitation of metal nanoparticles in microfluidic volumes is demonstrated, opening interesting possibilities for the further development of microfluidic detection schemes.



From left to right: The interaction of light with plasmonic nanoparticles results in resonant light absorption and resonant light scattering (RLS).

Frédéric SUBRA - IR CNRS au LBPA (UMR CNRS 8113 - ENS Cachan)
Responsable de la plateforme de culture cellulaire gérée par l'IDA et le LBPA.



1 - Quelles sont les vocations de la plateforme de culture cellulaire qui comprend actuellement un laboratoire P1 dit "Salle Interface", trois laboratoires de culture de sécurité P2 et un laboratoire P3 de haute sécurité ?

Les plateformes de culture cellulaire sont réparties en deux groupes. Le premier groupe concerne les plateformes de culture cellulaire L2 et L3, et le L2 bactériologique. Ces plateformes ont pour objet de permettre l'établissement et l'entretien de lignées cellulaires ou bactériologiques nécessaires pour mener à bien les différents projets scientifiques de cancérologie et de virologie. Le deuxième groupe concerne les plateformes de culture cellulaire L1 et le L2 confocal (Responsable : Etienne Henry). Le L1 est dédié à la réalisation d'expériences de microfluidique couplées à de l'imagerie par épi fluorescence sur des lignées cellulaires ou bactériennes de niveau 1 tandis que le L2 est lui consacré à des expériences de microscopie fluorescente en confocal sur des organismes de classe 2.

2 - Quelles types de collaborations existent-ils actuellement? Comment les intégrez-vous dans l'organisation quotidienne de la plateforme?

Qu'elles soient internes (LBPA et IDA) ou externes (Institut Gustave Roussy, Institut Pasteur), les collaborations scientifiques au sein de cette plateforme impliquent le LBPA de sorte qu'il est associé aux publications et bénéficiaire dans les diverses demandes de financement possibles. Ces collaborations concernent essentiellement la pharmacologie antivirale et un ensemble d'outils viraux (navettes virales) permettant de moduler l'expression des gènes dans les lignées cellulaires ou les cultures primaires. La plateforme met également en place de nouveaux outils d'imagerie de fluorescence, à la demande, afin de réduire les coûts de certains projets. Au sein des laboratoires L2 confocal et L3, soit nous réalisons nous-mêmes les projets, soit il est possible d'accueillir des équipes extérieures pour qu'elles réalisent leurs expériences (après formation aux règles de sécurité, et à l'utilisation des différents équipements). Pour les laboratoires L2 bactériologique, L2 culture cellulaire et la salle interface L1, il n'y a pas de personnel dédié. De ce fait, ces plateformes techniques sont mis à disposition uniquement en interne au LBPA et à l'IDA. Il est possible d'autoriser leur accès aux utilisateurs extérieurs sous réserve de l'accord des responsables (LBPA et IDA).

3 - En tant que Responsable du nouveau laboratoire L1 "Salle Interface", pouvez-vous nous décrire les moyens mis à disposition des équipes IDA et leurs règles d'utilisation?

Outre l'équipement d'imagerie composé de bancs optiques équipés de microscopes à épi fluorescence, nous avons installé deux postes de sécurité microbiologique (PSM) et l'équipement associé (une étuve à CO2, une centrifugeuse basse vitesse, un microscope optique et une ultra centrifugeuse). Ces deux PSM sont dédiés à la préparation des échantillons pour les expériences sur les bancs optiques. L'un est réservé à la manipulation des bactéries et l'autre à la préparation des cellules eucaryotes et la culture à court terme (3 à 6 jours) des nouvelles lignées cellulaires dont on ignore le statut mycoplasme. Pour travailler dans ce laboratoire, les utilisateurs doivent me signaler les organismes biologiques mis en œuvre afin que je valide si le classement OGM (organisme génétiquement modifié) correspond au classement de sécurité niveau 1 de la pièce (L1). De plus, ils doivent avoir suivi la formation pour le travail sous PSM et l'élimination des déchets biologiques (formation d'une heure). Enfin ils doivent s'engager à respecter par écrit le règlement de travail dans le L1 et s'inscrire sur les tableaux de réservation hebdomadaire d'utilisation des PSM.



1 - What is the role of the cell culture platform that for the moment consists of a L1 security lab also referred to as an "Interface Lab", three L2 security culture labs and a high security L3 lab?

The cell culture platforms are divided into two sections. The first contains the cell culture labs L2 and L3, and a bacteriological lab L2. These platforms are designed to facilitate the installation and upkeep of cellular and bacteriological lines required for a wide range of scientific projects centered on cancer research, virology and microbiology. The second concerns the cell culture platforms L1 and L2 associated with a confocal microscope (Person in charge: Etienne Henry). The L1 lab is dedicated to the production of microfluidic experiments coupled to epifluorescent imaging on level 1 cellular or bacterial lines whereas the L2 lab is devoted to experiments in confocal fluorescent microscopy on level 2 organisms.

2 - Which kind of partnerships is currently in place? How do you fit them into the day to day planning of the platform?

Internal (LBPA and IDA) or external (Gustave Roussy Institute; Pasteur Institute), the scientific partnerships in this platform involve the LBPA by joint publications and potential future benefits in setting up networks of project applications. These partnerships mostly concern antiviral pharmacology and the development and use of a set of viral tools (viral vectors) that permit fine-tuning of genes expression in cell lines or in elementary cultures. The platform also offers a cost cutting service on demand that provides access to new tools for fluorescent imaging. Within the L2 confocal and L3 labs, it is possible either for experiments to be carried out by trained staff or to be carried out by external teams under the guidance, and following training, by our trained staff... The bacteriological L2, cell culture L2 and interface room L1 labs are essentially for internal use for LBPA and IDA although access is possible for external users after agreement with and under the supervision of the personnel from LBPA and IDA in charge of these labs.

3 - As the person in charge of the new lab L1 "Interface Lab", can you describe the techniques provided to IDA teams and the rules governing their use?

Beyond imaging techniques contained on optical benches fitted out epifluorescent microscopes, we have installed two microbiological security posts (PSM) and complementary equipment (CO2 sterilizer, low speed centrifuge, optical microscope and ultracentrifuge). These two PSMs are devoted to the preparation of samples for experiments on the optical benches. One is reserved for practical work on bacteria and the other for the preparation of eukaryotic cells and short term cultures (3 to 6 days) of new cellular lines for which possibility of mycoplasma infection is still relatively high. To work in this lab, users have to inform me of the nature of the biological organisms being manipulated in order that I may approve if the GMO (genetically modified organism) grading fits with the level 1 security grading of the room (L1). Moreover, they have to have undergone a training course dealing with the use of a PSM and the elimination of biological waste (one hour training). Finally they have to sign a document that commits them to respect the work regulations in force in an L1 environment and to register on the weekly booking board for the PSM.

1991: Ph.D. from Paris 6 University in molecular pharmacology.
1992-2003: Engineer in biological studies (IE) CNRS.
Since 2003: Engineer for scientific research (IR) CNRS.
1992-2006: In charge of L3 safety laboratory and viral vector production platform of IGR.
Since 2006: Responsible for the design and project management of L3 safety lab and viral vector production platform of UMR8113 ENS Cachan.

Séminaires et thèses prévus

LBPA - « Molecular mechanisms of the nucleocapsid protein of HIV-1 deciphered by advanced fluorescence-based Tools »
Yves MELY (Université de Strasbourg, ILLKIRCH) - 17/05/13.

ENS Cachan - Centenaire de l'École - Journée des personnels - 23/05/2013.

LBPA - « Two little tales on HIV-1 Vif protein: oligomerization in living cells and translational regulation of the APOBEC3G restriction factor »
Jean-Christophe PAILLART (Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg) - 14/06/13.

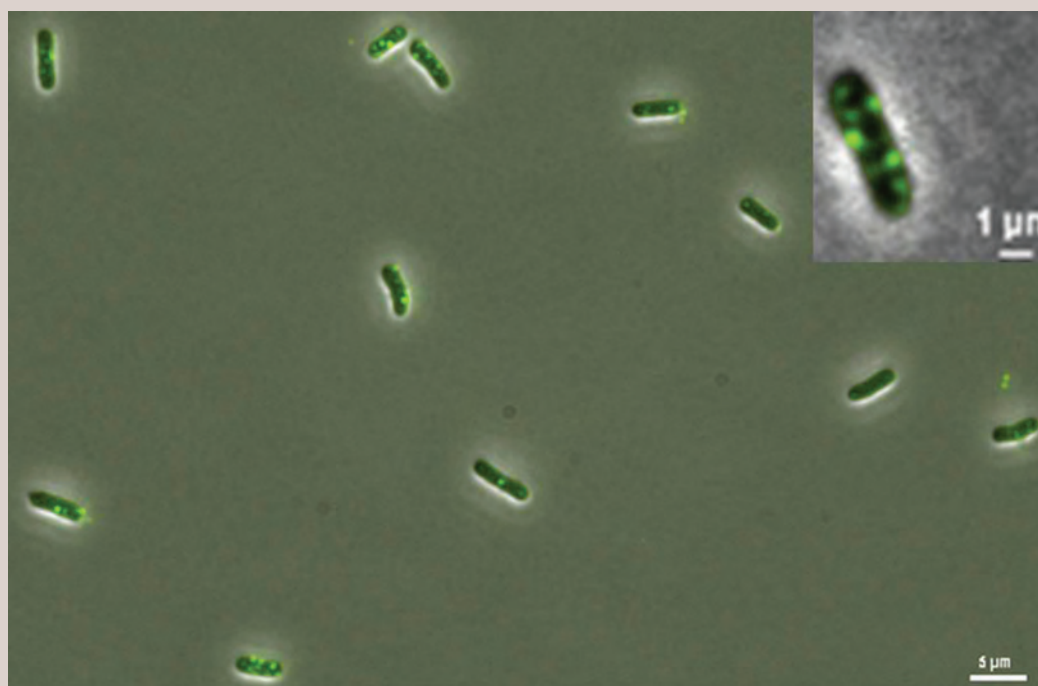
IDA/ECP - Rencontre INTERACTIONS pour le lancement des projets IDA/ECP - 25/06/2013.

ENS Cachan/IDA - Fête de la science - 17 et 18 Octobre 2013.

L'IDA EN IMAGE

Images de nanoparticules fluorescentes internalisées dans des bactéries *E. Coli* par électroporation observées avec un microscope à épifluorescence. La fluorescence des particules situées à l'extérieur des bactéries a été éteinte par ajout de bleu de méthylène. L'internalisation des particules nous permettra d'étudier les processus biologiques internes des bactéries en réponse à des stimuli par des expériences de suivi de trajectoire de particules uniques.

Images of fluorescent nanoparticles internalized in E. Coli after electroporation by an epi-fluorescence microscope. Fluorescence of the nanoparticles outside the bacteria was quenched by addition of methylene blue. The internalization will allow us to study the internal biological process of the bacteria response to stimuli by single-particle tracking bioimaging experiments.



Auteurs : Y. Si, R. Méallet-Renault, B. Sclavi, G. Clavier (PPSM-LBPA NanoFluBac IDA project)

Groupe Communication : Gaëlle Callouard, Marjolaine Vernier, Gilles Clavier, Sophie Abriet, Clément Lafargue, Corinne Brachet-Ducos