Parcours Imagerie en molécule unique

SMLM #PALM #STORM #PAINT

Parcours coordonné par
B. Durel / L. Danglot

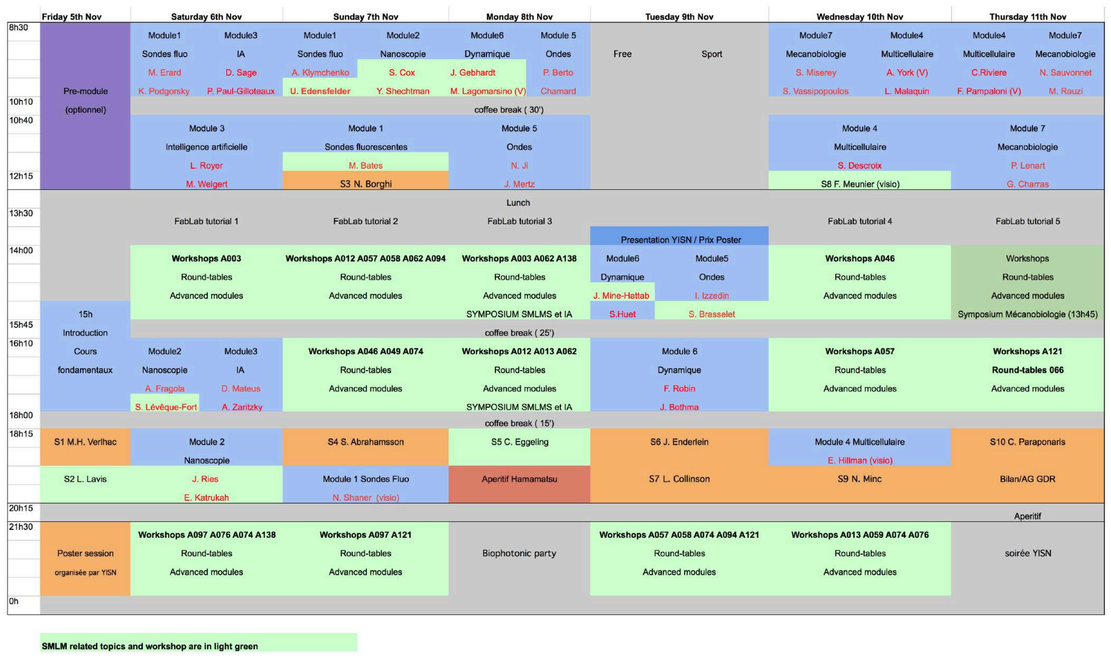
*SMLM : Single Molecule Localization Microscopy, PALM : Photo-Activated Localization Microscopy, STORM :Stochastic Optical Reconstruction Microscopy, PAINT:Point Accumulation in Nanoscale Topography

L'imagerie en molécule unique a connu, ces dernières années, un essor considérable. Elle fait partie des 3 techniques phares de microscopie dites de «Super-résolution» avec le SIM et le STED. Le nombre de publications concernant l'imagerie de molécules uniques et l'installation des systèmes au sein des plateformes étant croissant, nous avons décidé d'établir un parcours SMLM/STORM, afin d'aider les néophytes à s'orienter dans toutes les activités associées à MiFoBio. Ce parcours a été établi de façon conjointe avec le groupe de travail Pointillisme du RTmfm (coord. M. Mondin, K. Monier), et d'Audrey Salles et Sébastien Mailfert.

ImaBio
CNRS-Inserm-Aviesan-FBI-RTmfm

Objectifs pédagogiques

- Aborder les contraintes techniques et difficultés rencontrées lors de la préparation des échantillons (fluorophores, tampons de clignotement, montage en chambre ou sur lames)
- Exposer les différentes techniques utilisables sur des échantillons fixés ou vivants et la faisabilité de leur mise en œuvre sur des systèmes home made ou des systèmes commerciaux
- Exposer les différentes techniques 2D ou 3D utilisables pour l'imagerie multi couleurs (imagerie séquentielle à différente longueurs d'onde d'excitation ou demixage des longueurs d'ondes après excitation unique)
- Aborder les contraintes techniques et difficultés rencontrées lors de l'analyse quantitative des données de SMLM (densité de particules, rapport signal sur bruit, fréquence d'imagerie)
- Ouvrir des perspectives sur les nouveaux outils développés et à développer dans ce domaine
- Permettre à des communautés d'échanger des protocoles et des stratégies lors de la table ronde (nouvelles sondes, préparation d'échantillon, nouvelles méthodes pour suivre rapidement les déformations, technologies 3D, imagerie multi couleurs)



Introduction à la SMLM

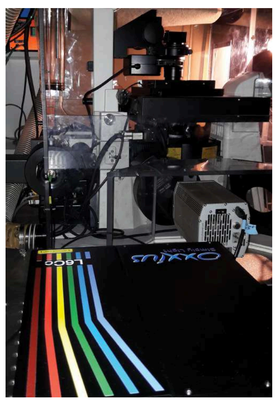
A057 - Introduction to single molecule localization super-resolution microscopy (SMLM)
M. Mondin #PALM #STORM #PAINT

Préparation des échantillons

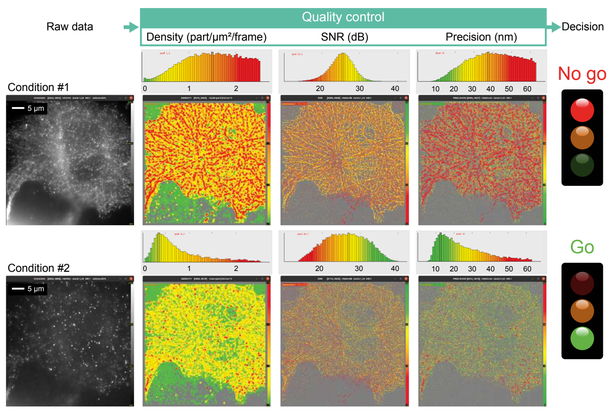
A121 - CentrO2 : Influence de la concentration en oxygène pour l'imagerie dSTORM multi-couleur du cil primaire
K. Monier, C. Rousset #Buffer #PAINT

Setup, acquisition, métrologie

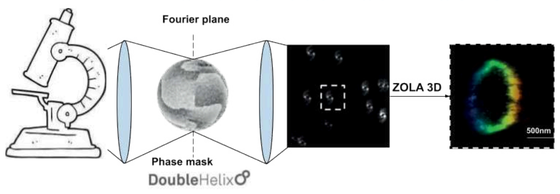
A046 - Comment adapter son microscope TIRF pour faire du STORM!
B. Durel, A. Salles #Homemade #STORM



A062 - Contrôle qualité des données brutes de SMLM en temps réel
S. Mailfert, N. Bertaux
#Homemade #Real-time analysis #STORM



A074 - 3D High Resolution imaging by PSF engineering using ZOLA-3D
M. Lelek
#Homemade #3D #STORM



A094 - Modulated excitation for enhanced localization : ModLoc
A. Illand, M. Lengauer #Homemade #PAINT

A097 - Nuclear pores complexe : a tool for for metrology in single molecule
L. Pincet #Metrology #Analysis

Modules / Séminaires / Cours / Symposium

Module 1 : *Stratégie de marquage, sondes et contrastes*
- Labelling strategies to visualize the inner life of microbes by single-molecule localization microscopy – a practical guide - *Ulrike Endesfelder*
- Switchable Organic Dyes: the Photophysics of STORM - *Mark Bates*

Module 2 : *Le défi de la quantification en nanoscopie*
- 3D single molecule localization microscopy - *Sandrine Lévêque-Fort*
- Super-resolution microscopy for structural cell biology - *Jonas Ries*
- Quantification of filament structures in super-resolution and expansion microscopy - *E.A. Katrukha*
- From images to information: enhancing resolution and improving accuracy in SMLM. *Susan Cox*
- Computational microscopy by PSF engineering - or – how and why to ruin a perfectly good microscope - *Yoav Shechtman*

Module 5 : *Ondes sur le vivant (avec le GDR Ondes)*
- Polarized microscopy resolves protein's organization in cells - *Sophie Brasselet*

Module 6 : *Dynamique et interactions moléculaires en cellules vivantes : expérimentation et modélisation*
- Revealing spatial and kinetic details of life processes by analyzing live cell single molecule tracking data - *J. Christof* - *M. Gebhardt*
- E. coli chromosome dynamics and the cell cycle - *Marco Cosentino Lagomarsino*
- Imaging DNA repair at the single molecule level - *Judith Miné-Hattab*

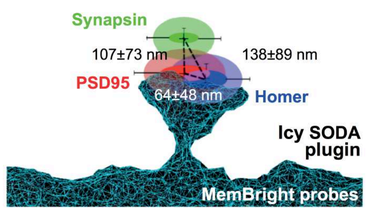
Séminaires rattachés en session plénière
- Super-resolution microscopy: Challenges and Potentials in biomedical research - *Christian Eggeling*
- Synaptic vesicle pools under the nanoscope - *Frédéric A. Meunier*

Cours Fondamentaux
- Basics of photochemistry for fluorescent microscopy - *Dominique Bourgeois*
- Concepts fondamentaux sous-jacents aux techniques de microscopie de fluorescence avancées. - *Guillaume Dupuis*
- How do dyes get into cells? - *Luke Lavis*

Mini-symposium - juliette.griffie@epfl.ch - hippolyte.verdier@pasteur.fr
- Molecular organisation and dynamics: is deep learning bringing something to the table?
  -> free registration for online access at *https://forms.gle/LSfPJkmFjMe1fCZSA*

Reconstruction et quantification

A012 - 3D quantitative analysis of colocalisation or spatial coupling in conventional and super resolution microscopy
L. Danglot, T.Lagache
#3D analysis #Coloc #Stat #Distance



A059 - Coordinate-based quantification of multidimensional and multicolor single-molecule localization microscopy data
F. Levet
#3D analysis #Cluster #Coloc

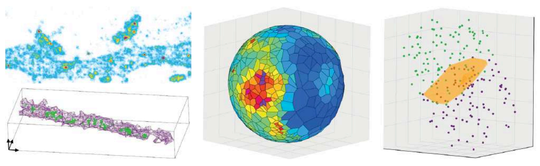
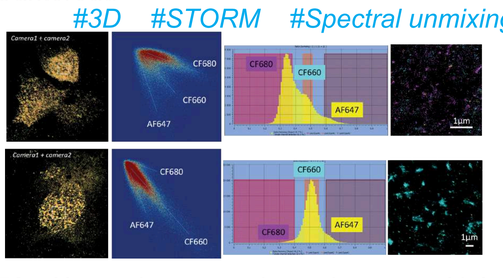


Table ronde

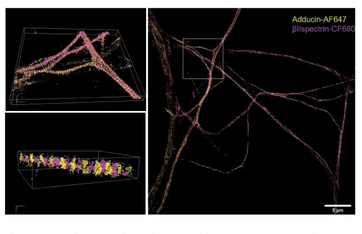
A066 - SMLM au-delà de l'esthétique ?
C. Malleval, K. Monier
#Sample preparation #2D/3D #PALM #STORM #Analysis #Multi-color

Applications biologiques et acquisitions

A003 - Multicolor and 3D STORM to study localization of proteins adressed to apical membrane of polarized epithelial cells
A. Cantereau
#3D #STORM #Spectral unmixing

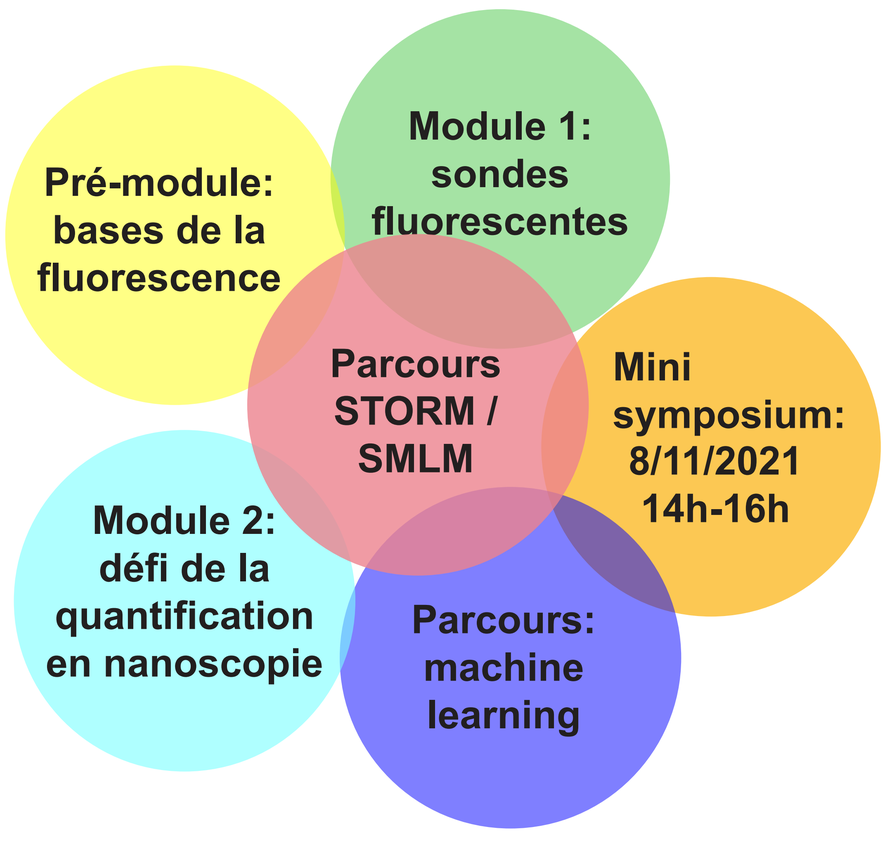


A013 - Comparing multicolor Single-Molecule Localization Microscopy strategies: Application to the neuronal cytoskeleton
C. Leterrier, K. Friedl
#PAINT #STORM #Spectral unmixing



A076 - Alternative strategies to image multiple proteins in single molecule localization microscopy
S. Lévêque-Fort #PAINT #STORM #Spectral unmixing

A138 - Colocalisation de complexes macromoléculaires en super-résolution PALM/STORM
X. Marques #PAINT #STORM

A058 - Quantitative pipeline to extract reliable information from PALM-recordings of biomolecules dynamics
JB. Masson, A. Casse #Metrology #PALM #AI

Modules associés