



Thesis project in Microscopy

Host Laboratory:

Interdisciplinary Institute for Neuroscience (IINS), UMR5297, Bordeaux – France
In the team “Quantitative Imaging of the Cell” directed by Jean-Baptiste Sibarita.

Start: The PhD is financed through the ANR project “soLIVE” granted in 2016. The PhD will start during the 2018 year. There is a possibility to first perform a Master 2 internship or a last year engineer school internship prior to the PhD.

Keywords:

Light-sheet microscopy; Super-resolution; Single Particle Tracking; Structured Illumination Microscopy; Drosophila embryos.

Project description:

A PhD position is currently available at the Interdisciplinary Institute for Neuroscience (IINS) at Bordeaux to develop new super-resolution approaches for probing the fast and long-term dynamics of proteins in depth within complex tissues at high spatial resolution. This work will be based on a light-sheet microscope recently developed in the team and named soSPIM, which combines a single-objective with micro-fabricated chips featuring 45° mirrors^{1,2}. We already demonstrated the capabilities of this systems to perform multi-scale 3D imaging from the whole drosophila embryos scale down to the single cell scale. In addition, we have shown that the combination of the optical sectioning provided by the light sheet excitation with a high numerical objective enables to perform single molecule based super-resolution up to 30 µm deep above the coverslip.

The aim of the project will be to improve the imaging capabilities of the soSPIM system to probe the various dynamics of adhesion proteins during the development of drosophila embryos at high spatial resolution. It will consist of implementing on the soSPIM system single particle tracking approaches and structured illumination microscopy methods³ to probe the fast and long-term dynamics of proteins respectively. To achieve this goal, we will implement both excitation beam shaping⁴ and adaptive optics⁵ in order to optimize the excitation and detection paths, respectively, and implement specific micro-fabrication processes to create devices dedicated to the imaging of drosophila embryos. In collaboration with G. Giannone team (IINS, Bordeaux) and N. Brown team (Gurdon Institute, Cambridge), we will then study the formation and maturation of adhesion sites during drosophila embryos development and their role in muscle tissue formation.

Mots Clefs:

Microscopie à feuille de lumière; Super-résolution; Suivie de molécules uniques, Microscopie par illumination structurée; Embryon de drosophile.

Description du projet:

Le projet de thèse ouvert au sein de l'Institut Interdisciplinaires de Neurosciences (IINS – Bordeaux) a pour objectif le développement de nouveaux outils de super-résolutions optique permettant de sonder les différentes dynamiques de protéines et structures protéiques en profondeur à l'intérieure d'échantillons complexes. Ce projet impliquera plusieurs développements instrumentaux ainsi que leurs validations sur des questions biologiques précises. Ce travail s'appuiera sur une architecture de microscope à feuille de lumière, nommée soSPIM, récemment développée au sein de l'équipe de recherche et qui utilise la combinaison de supports micro-fabriqués présentant des miroirs à 45° avec un unique objectif. Ce microscope offre l'avantage de permettre une imagerie 3D multi-échelle d'échantillons allant de l'embryon de drosophile entier à la cellule unique. De plus, la combinaison du sectionnement optique de l'illumination avec des objectifs à forte ouverture

numérique permet l'imagerie de super-résolution par localisation de molécules individuelles jusqu'à 30 μm au-dessus de la lamelle.

L'objectif du projet de thèse sera d'améliorer les capacités d'imagerie du système soSPIM pour permettre de mesurer les dynamiques lentes (min. à jour) et rapides (ms à sec) de protéines d'adhésions au cours du développement de l'embryon de drosophile. Pour cela, des approches de façonnage du faisceau d'excitation ainsi que d'optique adaptative seront mise en place afin d'améliorer l'excitation et la détection des molécules fluorescentes. D'autre part, des méthodes spécifiques de micro-fabrication seront développées pour la réalisation de supports dédiés à l'imagerie des embryons de drosophile. En collaboration avec les équipes de G. Giannone (IINS – Bordeaux) et de N. Brown (Gurdon Institute – Cambridge) ces développements instrumentaux seront ensuite utilisés pour étudier la formation et la maturation des sites d'adhésions cellulaires au cours du développement de l'embryon de drosophile et leur rôle dans la formation des tissus musculaires.

Required skills:

The candidate should be highly motivated and should show a strong interest in the development of imaging tools for biology. Prior knowledge in optical microscopy is required, and interest in micro-fabrication processes and/or biology would be preferred.

The candidate is strongly encouraged to perform his Master 2 internship or last year of engineer school internship on this subject before the thesis.

Contact:

To apply, candidates should email a CV and a motivation letter to:

- Rémi Galland (remi.galland@u-bordeaux.fr)

References

1. Galland, R. *et al.* 3D high- and super-resolution imaging using single-objective SPIM. *Nat. Methods* **12**, 641–644 (2015).
2. Singh, A. P. *et al.* 3D Protein Dynamics in the Cell Nucleus. *Biophys. J.* **112**, 133–142 (2017).
3. Gustafsson, M. G. L. Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy. *J. Microsc.* **198**, 82–87 (2000).
4. Chen, B.-C. *et al.* Lattice light-sheet microscopy: Imaging molecules to embryos at high spatiotemporal resolution. *Science* (80-.). **346**, 1257998–1257998 (2014).
5. Izeddin, I. *et al.* PSF shaping using adaptive optics for three-dimensional single-molecule super-resolution imaging and tracking. *Opt. Express* **20**, 4957–67 (2012).