



# Le Journal du LBN

Laboratoire Biosanté et Nanoscience - EA4203  
UFR Odontologie - Université Montpellier 1

N°2 - juin 2013



## Edito : « S'épanouir dans cette aventure qu'est la recherche »

Voici le deuxième numéro d'un journal qui, grâce à l'énergie et à la passion d'Alban, prends vie. Le choix éditorial est de présenter des étudiants en formation au sein du laboratoire. Le premier numéro était focalisé sur la recherche, notre première mission et le second a cette mission tout aussi importante: la formation. Le laboratoire n'existerait pas sans l'énergie des docteurs qui outre leurs propres travaux encadrent d'autres étudiants. En effet, l'absence de chercheur titulaire nous oblige sans cesse à nous « débrouiller » et il semble que nous soyons assez doués pour

cela.

Le laboratoire continue de grandir, humainement et scientifiquement.

Cette année est marquée par le départ d'Hélène Tournier, qui a contribué au fonctionnement du laboratoire et à la poursuite de l'histologie des tissus calcifiés. Je voudrais ici la remercier en notre nom commun pour sa constante disponibilité et sa patience. Elle a transmis le flambeau de l'histologie à Alban, qui deviendra très bientôt je l'espère, notre nouveau technicien.

**Je vous souhaite à tous de vous accomplir et vous épanouir dans cette aventure qu'est la recherche.**



Professeur Cuisinier,  
Directeur du LBN (EA4203)



### ICFOD 2014

L'édition 2012 de l'ICFOD a réuni 70 personnes, en majorité des scientifiques des quatre coins du globe, venus pour présenter les dernières découvertes et avancées en matière de fluorescence appliquée au diagnostic. Des partenaires de choix, comme Acteon, Komet, Kavo et Colgate ont aidé à la réussite de cette manifestation.

L'objectif était de promouvoir une politique de fond basée sur le diagnostic, la prévention, pour des pathologies très diverses, de la carie jusqu'aux lésions cancéreuses. Un constat s'était imposé : il y a un vaste champ pour la prévention, en particulier avec le développement des outils technologiques que sont les caméras à fluorescence.

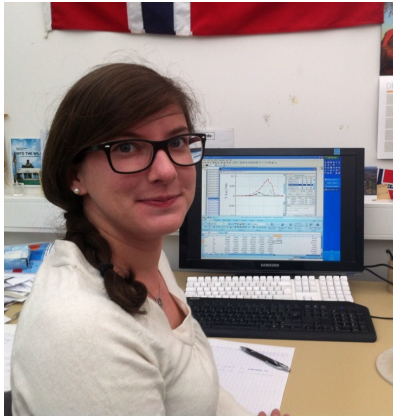
Ainsi, les professeurs Gillenwater (Etats-Unis), Gugnani (Inde), Reichmann (Etats-Unis), Emde (Allemagne), Gergely (France), Tassery (France), Cuisinier (France), Fricain (France), Jacquot (France) ou Panayotov (France) se sont succédés pour faire le point sur l'état de l'art au niveau mondial.

70 personnes, c'est à la fois beaucoup pour une première édition, mais nous ambitionnons d'élargir encore plus cette conférence pour 2014.

Nous invitons dès à présent les praticiens, les étudiants et chercheurs à aller consulter les travaux sur le site internet ([icfod.com](http://icfod.com)) et à se préparer à venir à Montpellier, les 4 et 5 septembre 2014.

## Etudiants de Master Phymed (UM2) ou étudiants étrangers

### Florence, étudiante en Master Phymed

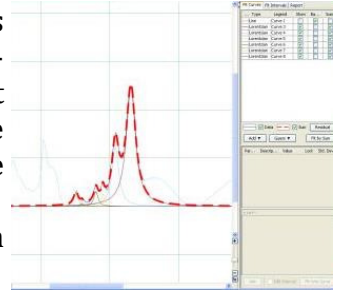


Le stage que j'effectue au laboratoire de biologie, santé et nanoscience comporte deux parties.

La première partie consiste à analyser des spectres infrarouges correspondant à des échantillons de silicium poreux sur lesquels ont été déposées des cellules souches. On cherche à savoir pour quelle taille de pores l'adhésion et la différenciation de ces cellules en cellules osseuses est la meilleure. Pour cela, on effectue une déconvolution des spectres, c'est-à-dire qu'on identifie les espèces présentes ainsi que leur quantité. On va particulièrement rechercher les amides qui témoignent de la présence de cellules et le phosphate qui rend compte du caractère

osseux des cellules.

La deuxième partie aura pour objet le traitement d'images obtenues par microscopie à fluorescence à l'aide du logiciel ImageJ afin d'évaluer la taille et la forme des cellules.



### Kendri Samir, étudiant en Master Phymed

La microscopie de Raman est une technique de microscopie non destructive pour les échantillons biologiques. Elle est souvent utilisée pour identifier et localiser les molécules présentes dans les cellules, elle peut être qualifiée comme étant la technique la mieux adaptée pour une analyse chimique microscopique de la cellule sans l'utilisation de marqueurs chimiques ou fluorescents qui peuvent la perturber.

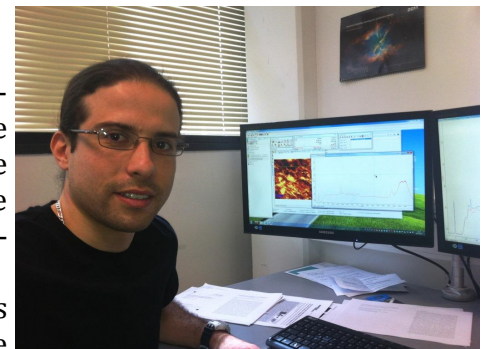
La microscopie de Raman repose sur le phénomène des vibrations des liaisons entre les atomes. Chaque liaison présente sa propre vibration, ce qui représente une sorte d'empreinte ou signature caractéristique de l'ensemble de la molécule. Il s'agit d'une technique optique vibrationnelle qui permet d'obtenir des informations sur la vibration des liaisons chimiques d'une molécule suite à une excitation par un laser, pour aboutir à des spectres vibrationnels de l'ensemble des molécules présentes dans la cellule.

Les cellules souches offrent des grands espoirs pour traiter les organes malades, tester des médicaments, de mieux comprendre le développement de certaines maladies génétiques mais surtout pour développer de biomatériaux pour une médecine régénératrice plus adaptée et plus efficace.

Le but de mon stage sera d'utiliser la microscopie de Raman afin d'étudier la différenciation ostéogénique des cellules souches mésenchymateuses en cellules osseuses. Pour cela des observations de cellules souches seront réalisées à différents stades de différenciation. En général quatre stades seront examinés par microscopie de Raman :

- Cellule souche mésenchymateuse non différenciée.
- Cellule différenciée au 7<sup>ème</sup> jour.
- Cellule différenciée au 14<sup>ème</sup> jour.
- Cellule différenciée au 21<sup>ème</sup> jour.

Ensuite les résultats seront traités pour identifier la différence en composition chimique des cellules en cours de différenciation et pour examiner quelles sont les molécules qui apparaissent et/ou disparaissent et à quel stade de la différenciation. Enfin pour localiser certaines molécules caractéristiques des cellules osseuses différenciées, ce qui peut apporter plus d'informations sur le mécanisme de différenciation osseuse des cellules souches mésenchymateuses.



## Ingénieurs : il font leur stage au laboratoire...

### Agnes Györgyey , étudiant thésarde hongroise



**J**e m'appelle Agnes Györgyey et je veux présenter les impressions de mon séjour au laboratoire Bioingénierie et Nanoscience à la Faculté d'Odontologie à Montpellier.

Quelques mots sur moi : je suis une assistante hospitalo-universitaire à la Faculté d'Odontologie de l'Université de Szeged (Hongrie). Il y a trois ans j'ai commencé ma thèse de doctorat sur la fonctionnalisation de la surface implantaire. Actuellement je travaille sur un traitement antibactérien de la surface des implants du titane avec des polymères synthétiques et

des nanoparticules d'argent. Le but de mon travail est d'empêcher l'adhésion des bactéries sur la surface, afin de permettre une meilleure ostéointégration.

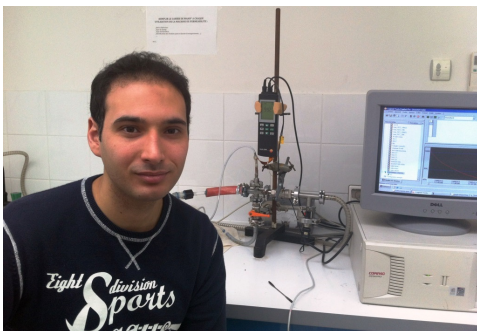
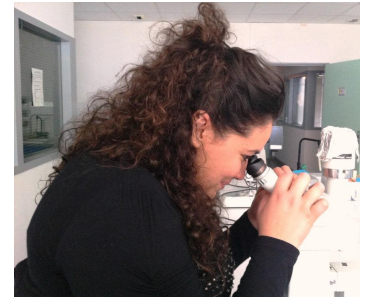
Pendant mon séjour au labo de Montpellier nous avons évalué l'effet du traitement de la surface sur des cellules ostéoblastes. Ce projet est une coopération entre l'Université de Szeged et l'Université de Montpellier I. Nous avons fait des tests de prolifération et de différenciation cellulaires en utilisant des techniques colorimétriques, la microscopie à fluorescence et la microscopie électronique à balayage pour caractériser la forme et l'adhésion cellulaire sur les surfaces. L'étude sur la déposition d'une matrice extracellulaire et la possibilité de sa calcification était une autre partie de notre travail avec des résultats très prometteurs. La microscopie confocale Raman, l'un des équipements du labo, nous a permis la visualisation des nanoparticules autour et à l'intérieur des cellules vivantes.

Toutes ces études furent très utiles pour l'avancement de mon projet de thèse. Je me suis sentie chaleureusement accueillie au sein d'une équipe jeune et très ambitieuse. Mon séjour était dynamique, passionnant, remplis avec des moments inoubliables et de la recherche de haute qualité. Ce qui fait une telle expérience un bon souvenir pour chaque personne passionnée par la recherche.

À la fin je voudrais juste remercier le directeur du laboratoire, Professeur Frédéric Cuisinier, pour l'opportunité qu'il m'a offerte de faire un mois de stage dans son laboratoire à Montpellier.

### Loubna Drissenek , étudiante en Master Phymed

**J**'effectue mon stage de master 1 au sein du laboratoire biologie de santé et nanoscience. Le but étant d'analyser les brins de trois types de brosses à dents électriques avant et après brossage. J'ai utilisé la spectroscopie Raman, qui est une méthode non destructive, afin d'étudier leurs compositions chimiques, et déduire la nature des polymères utilisés dans leur fabrication. Grâce à la microscopie à force atomique en mode tapping, j'ai pu voir la topographie de la surface des brins et mesurer leurs viscoélasticités et leurs rugosités.



### Baguette M'hamed, étudiant en Master Phymed

**M**on stage consiste en l'étude et la mesure de la perméabilité des connectiques implantaires (implant et pilier) par diffusion gazeuse.

Cette méthode de mesure est actuellement l'une des plus précises pour déterminer l'étanchéité des connexions entre les pièces des implants dentaires. Cette méthode de mesure est cependant bruitée par la pression atmosphérique.

L'objectif de mon stage sera par conséquent de rechercher des méthodes capables de nous dispenser du bruitage de la pression atmosphérique.

Actuellement, je suis entrain d'effectuer une recherche bibliographique sur le sujet, afin de trouver des méthodes de mesure qui nous dispenseraient de la pression atmosphérique, tout en étant aussi précise que la méthode par diffusion gazeuse. Tout au long de mon stage, je réaliserai également des séries de mesures de perméabilité, à l'aide de cette technique de diffusion gazeuse.



Publication d'Hamideh Salehi, étudiante en thèse au LBN

## Confocal Raman data analysis enables identifying apoptosis of MCF-7 cells caused by anticancer drug paclitaxel

H. Salehi<sup>1</sup>, E. Middendorp<sup>1</sup>, I. Panayotov<sup>1</sup>, P-Y. Collard Dutilleul<sup>1</sup>, A-G. Vegh<sup>1,4</sup>, S- K. Ramakrishnan<sup>2,3</sup>, C. Gergely<sup>2,3</sup>, F. J. G. Cuisinier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire Biologie-Santé Nanosciences, EA 4203, UFR Odontologie, Université Montpellier 1, Montpellier, 34193, France

<sup>2</sup>Université Montpellier 2, Laboratoire Charles Coulomb UMR 5221, F-34095, Montpellier, France

<sup>3</sup>CNRS, Laboratoire Charles Coulomb UMR 5221, F-34095, Montpellier, France

<sup>4</sup> Institute of Biophysics, Biological Research Centre of the Hungarian Academy of Sciences, 6726, Szeged, Hungary

### ABSTRACT

Confocal Raman microscopy, a non-invasive, label free imaging technique is used to study apoptosis of live MCF-7 cells. The images are based on Raman spectra of cells components and their apoptosis is monitored through diffusion of cytochrome c in cytoplasm. K-mean clustering is used to identify mitochondria in cells and correlation analysis provides the cytochrome c distribution inside the cells. Our results demonstrate that incubation of cells for three hours with 10  $\mu\text{M}$  paclitaxel does not induce apoptosis of MCF7 cells. Contrary, incubation for thirty minutes at higher concentration (100  $\mu\text{M}$ ) of paclitaxel induces gradual release of cytochrome c into the cytoplasm, indicating cell apoptosis via a caspase independent pathway.

**Keywords:** Apoptosis, Raman microscopy, Paclitaxel, K-mean cluster, correlation coefficient, living cell.

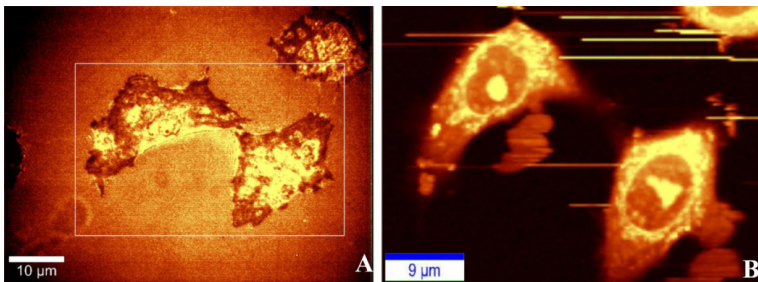


FIG. 1 (A) Bright-field microscopic image of MCF-7 cell in buffer solution, 60 $\times$  objective. (B) Integrated Raman intensities in the 2800-3000  $\text{cm}^{-1}$  region of the cells shown in A, collected at a dwell time of 0.5 s/point and a point spacing of around 300 nm. Bright yellow hues indicate the highest and the dark hues the lowest integrated C-H stretching intensities, respectively.

NB : entre le temps où cet article a été rédigé et aujourd'hui, Hamideh a brillamment soutenu sa these, elle a obtenu la mention "très honorable". Toutes nos félicitations à elle !

## Une nouvelle compétence au LBN : le micro CT

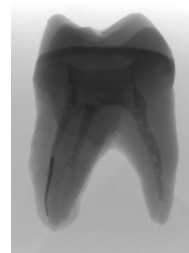
D'un incroyable intérêt pédagogique et fort d'un potentiel scientifique encore à exploiter, la technique du microtomographe est une des nouvelles compétences acquises par le laboratoire.

Le micro tomographe, appelé également micro CT, offre la possibilité de reconstituer en 3 dimensions des objets à partir de leur densité.

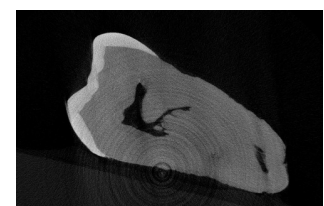
La tomographie utilise l'imagerie par rayons X. A partir d'une série de radiographie, un algorithme reconstitue des coupes transversales qui permettent ensuite d'explorer les zones d'un fossile, l'ossature d'un animal ou l'intérieur... d'une dent (voir photos).

Voir les zones de baisses de densité dentaire, voyager à travers les canaux... c'est maintenant possible. Une thèse sur le traitement de la carie est en cours, utilisant cette technique.

A voir sur Youtube :  
<http://youtu.be/XWh2NmlLIw>  
<http://youtu.be/zigiJ8eP6HA>



Radiographie brute d'une dent au Micro CT



Reconstitution d'une coupe transversale avec Nrecon



Reconstruction d'une dent en 3D avec Aviso