

Utilisation de la Microscopie Électronique pour l'étude des bactériophages

Atelier organisé par le Réseau Phages.fr

Institut de Biologie Structurale, Grenoble
12 ET 13 SEPTEMBRE 2018

Mercredi 12 septembre 2018 :

14h00 – 14h30 : Tour de table de présentation des participants

Quelles sont les questions et attentes de chacun au cours de cet atelier?

14h30 – 15h15 : Nicolas Ginet (LCB, Marseille)

Isolement des phages jusqu'à leur observation en microscopie électronique : choix des échantillons, méthodes d'enrichissement et de concentration, prérequis pour la préparation de l'échantillon (concentration, volume, pureté,...)

15h15 – 15h45 : Paulo Tavares (I2BC, Équipe SPP1, Gif-sur-Yvette)

ME de l'ADN des phages et de ses interactions avec les protéines: des approches d'antan mais toujours utiles

15h45 – 16h15 : Pause

16h15 – 16h45 : Pascale Boulanger (I2BC, Équipe T5, Gif-sur-Yvette)

Localisation des protéines structurales par immunomarquage (SPP1, T5 et autres...)

16h45 – 17h45: Jean Lepault (I2BC, Virologie Structurale, Gif-sur-Yvette)

Introduction aux différentes approches structurales : histoire et évolution de la Cryo-EM des phages

17h45 – 18h30... : Discussions

19h30 Wine & Cheese sur place

Judi 13 septembre 2018

9h – 13h00 : Guy Schoehn (IBS, Groupe et Plateforme Microscopie, Grenoble)

- ME par coloration négative des phages et de leurs intermédiaires d'assemblage: présentations orales /échanges d'expériences
- Observation en coloration négative de T5, Jumbo phages et échantillons des participants

Déjeuner à l'IBS

14h30 – 15h30 : Cécile Breyton (IBS, Équipe SSIMPA, Grenoble)

Introduction aux différentes approches structurales : combinaison RX/cryo-EM, dynamique des protéines par RMN

15h30 – 16h : Elisabetta Boeri-Erba (IBS, Plateforme Spectrométrie de Masse, Grenoble)

Christophe Masselon (EDyP, Biosciences & Biotechnology Institute of Grenoble)
Spectrométrie de masse native pour étudier les gros assemblages

16h – 16h30 : Discussion générale, retour sur l'atelier

BILAN

Nombre de participants : 18 personnes membres de la liste de diffusion phages.fr
+ 3 personnes hors Phages.fr

Phagistes : 12 personnes travaillant effectivement sur les phages

Non phagistes :

- 2 cristallographes intéressés par la cryo-EM des phages
- 1 cryo-microscopiste invité (Jean Lepault)
- 1 étudiante en Thèse qui utilise les phages en nanotechnologies
- 2 chercheurs en protéomique

Points forts :

- les échanges d'expériences
- l'atelier pratique
- les nouvelles perspectives pour comprendre l'organisation structurale des bactériophages

Conclusions :

Toute personne qui souhaite être guidée dans l'isolement, la purification et la caractérisation morphologique de nouveaux phages peut trouver au sein du réseau des interlocuteurs expérimentés.

En particulier auprès de plateformes de microscopie de Grenoble, Gif sur-Yvette, Marseille,....

Pour les études structurales à haute résolution de nouvelles techniques sont accessibles de manière plus restreinte, en collaboration avec des cryo-microscopistes (Microscopes KRIOS)

L'analyse protéomique par les méthodes classiques ou en conditions natives peut permettre rapidement de connaître la composition protéique des particules phagiques.

BILAN FINANCIER

Total Dépenses 1864 €

Restauration et pauses café = 1089 € (25 personnes)

Frais de mission participants réseau et invités : 695 €

Plateforme microscopie : 80€

Crédits : 1500 € Budget RTP 2018 + 364 € reliquat Colloque Phages-Sur-Yvette

Remarque : 130 € auraient pu être économisés si trois personnes avaient qui ne sont pas venues avaient veillé à nous prévenir suffisamment tôt pour décommander les repas.

Perspectives 2019 pour le groupe thématique « Mécanismes moléculaire de l'Infection »

Les nouvelles propositions thématiques doivent être discutées dès le colloque de fin d'année.

- Utilisation de CRSPRCas pour le remaniement des génomes de phages et la construction de mutants
- Études des interactions protéine/protéines et ADN /protéines au cours de l'infection (approches biochimiques + double hybride)
- Analyse de l'expression des gènes de phages au cours de l'infection.....
- Imagerie *in vivo* de l'infection
-

Une proposition retenue représentera un centre d'intérêt au départ pour un minimum de participants qui définiront un contenu et une forme (discussions table rondes, ateliers pratiques ou non, invitation d'intervenants....

Puis, c'est seulement quand elle est annoncée avec des dates et un contenu que d'autres personnes s'y intéressent et s'engagent (plus ou moins...) à y participer.