



HAL
open science

Utilisation de l'Eci pour la transparence chez le poisson : exemples d'applications pour l'imagerie 3D

Adèle Branthonne, Manon Thomas, Jérôme Bugeon, Jean-Charles Gabillard,
Manon Lesage, Violette Thermes

► To cite this version:

Adèle Branthonne, Manon Thomas, Jérôme Bugeon, Jean-Charles Gabillard, Manon Lesage, et al..
Utilisation de l'Eci pour la transparence chez le poisson : exemples d'applications pour l'imagerie
3D. 32. Congrès de l'Association Française d'Histotechnologie, Jun 2019, Strasbourg, France. , 2019.
hal-02786189

HAL Id: hal-02786189

<https://hal.inrae.fr/hal-02786189>

Submitted on 4 Jun 2020

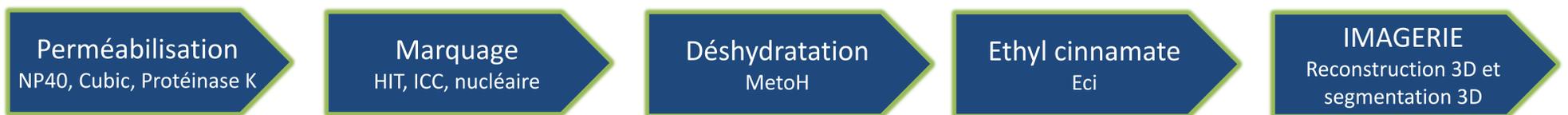
HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Introduction

Le fait de rendre transparent (ou de clarifier) les échantillons biologiques permet de s'affranchir de la contrainte d'opacité des tissus et facilite leur imagerie en profondeur. Depuis une dizaine d'années, un grand nombre de techniques de transparence ont été développées. Certaines sont basées sur l'utilisation de solvants organiques et d'autres sur l'utilisation de solutions aqueuses. Parmi les différents protocoles testés au laboratoire, nous en avons retenu un basé sur l'utilisation de l'éthyl cinnamate (Eci) qui présente les meilleurs résultats de transparence sur nos tissus de poissons (ovaire, muscle et larves) et qui est compatible avec différentes techniques de marquage (marquages nucléaires, hybridations *in toto*, et immuno-localisation).

Protocole



Résultats / discussion

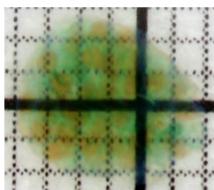
Transparence ECI

Ovaire de médaka

Avant

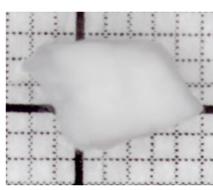


Après

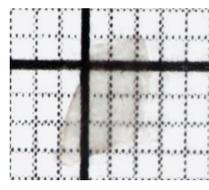


Muscle de truite

Avant



Après

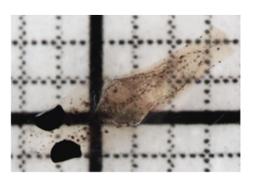


Larve de médaka 30 dpf

Avant

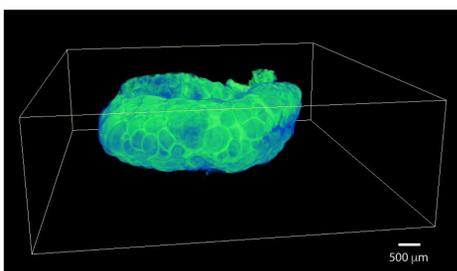


Après

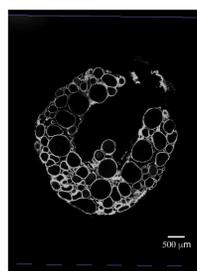


Imagerie - Reconstruction 3D (AMIRA)

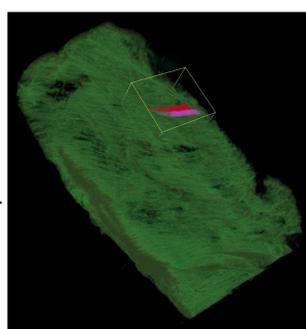
Vue 3D



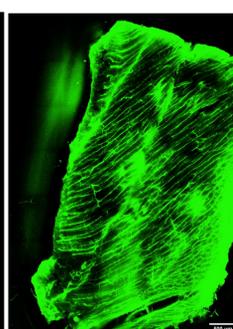
Section XY



Vue 3D

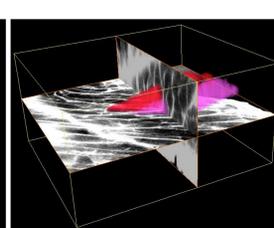
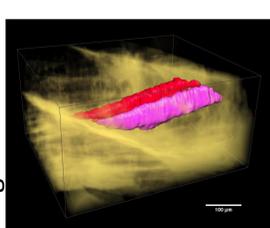


Section XY



Acquisition WGA

Segmentation 3D



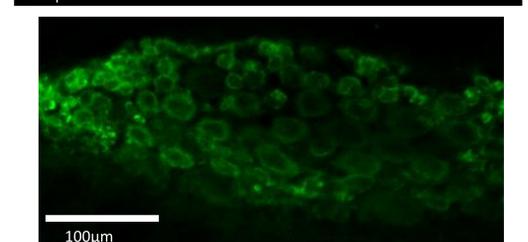
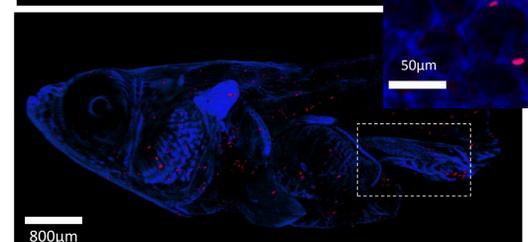
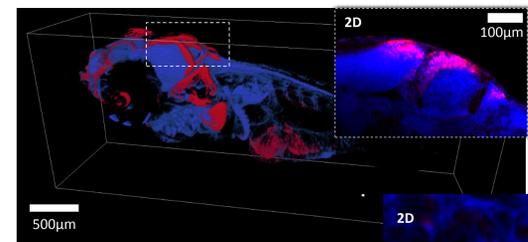
But : quantifier & mesurer les follicules

But: voir la disposition des fibres entre deux septums

MG- HIT- PCNA- Larve 20 dpf

MG- ICC- PH3 Larve 40 dpf

ICC- VASA ovaire 40 dpf



illustrations de marquage: hybridation *in toto*, immuno localisation

Conclusion

La transparence des tissus biologiques est en plein essor. De nouvelles méthodes sont régulièrement développées et le choix de la méthode à utiliser dépend à la fois de l'échantillon à observer, du marquage souhaité et du microscope utilisé. Nous venons de démontrer que la transparence basée sur l'Eci fonctionne sur de nombreux tissus de poisson que ce soit sur des larves entières, sur des échantillons de muscle ou sur des gonades disséquées. De plus, cette technique est compatible avec différents types de marquages tels que le marquage nucléaire, l'hybridation *in toto* et l'immuno-localisation.