

## Thèse : Validation et optimisation de nouvelles sondes fluorogéniques pour l'imagerie super-résolutive DNA-PAINT

L'émergence des microscopies super-résolutives a transformé en profondeur la recherche en biologie cellulaire et moléculaire en permettant de visualiser des structures et organelles sous la limite de diffraction de la lumière. Parmi les principales variantes, les microscopies de super-localisation PALM (photoactivatable and photoconvertible localization microscopy) et dSTORM (direct stochastic optical reconstruction microscopy) sont particulièrement performantes, permettant des résolutions de l'ordre d'une dizaine de nanomètres. Toutefois, l'une des principales limites de ces approches est la maîtrise du clignotement stochastique des marqueurs fluorescents. Une variante est la technique DNA-PAINT (accumulation de points pour une imagerie topographique à l'échelle nanométrique) qui exploite l'hybridation transitoire programmable de brins d'ADN fluorescents courts (brins d'ADN imageurs) à un brin complémentaire lié de manière covalente à une cible. L'ADN imageur lié de façon transitoire au brin complémentaire génère des flux de photons localisés contrastant avec le bruit de fond des molécules diffusantes dans le champ d'observation. Le processus d'activation / désactivation est donc principalement contrôlé par la constante de diffusion de l'ADN imageur et de sa constante de dissociation avec sa séquence cible. L'objectif de cette thèse est de diminuer le bruit de fond lié de l'ADN imageur libre en l'étiquetant avec des sondes fluorogéniques, presque non fluorescentes dans l'ADN simple brin, mais qui deviennent hautement fluorescentes une fois l'hybridation avec le brin cible effectuée. Ce projet soutenu par un financement de l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR) sera réalisé dans le laboratoire d'Yves Mély (Strasbourg), en collaboration avec l'équipe d'Alain Burger. Le(la) candidat(e) aura dans un premier temps pour objectif de caractériser et valider ces ADN en molécule unique. Les meilleurs brins d'ADN imageurs fluorogéniques ainsi identifiés seront ensuite utilisés pour localiser et imager par DNA-PAINT un ARNm cible dans des échantillons cellulaires. Ce sujet s'adresse à un(e) étudiant(e) (biophysicien, physico-chimiste ou biologiste) souhaitant travailler sur des approches de microscopie innovantes. Des connaissances en microscopie et/ou spectroscopie de fluorescence ainsi qu'une forte volonté de s'investir dans ces domaines seraient un atout.

Les personnes intéressées sont invitées envoyer leur *curriculum vitae*, leurs relevés de notes en M1 et M2, et les coordonnées d'au moins un référant par courriel à [yves.mely@unistra.fr](mailto:yves.mely@unistra.fr).

Laboratoire de Bioimagerie et Pathologies (LBP) UMR 7021 CNRS  
Faculté de Pharmacie  
74 route du Rhin  
67401 Illkirch  
<http://www-lbp.unistra.fr/rubrique3.html>

Date limite de dépôt des candidatures : 25 Mai 2019.

Date de début : au plus tard octobre 2019.

Durée : 3 ans.

Financement : ANR, acquis.