La Plateforme d'Histologie et de Microscopie Électronique

La Plateforme d'Histologie et de Microscopie Électronique offre aux professeurs, chercheurs, cliniciens et étudiants, plusieurs services d'histologie et de microscopie allant de la préparation de leurs échantillons biologiques humains ou animaux à leur analyse morphologique histologique, cellulaire et ultrastructurale.

La Plateforme détient un savoir-faire et une expertise pour la réalisation de projets nécessitant des techniques d'histopathologie, de morphologie ultrastructurale, de localisation subcellulaire et d'isolation de tissus ou de cellules à partir de coupes histologiques ou de préparations cellulaires par microdissection laser (LCM). Les applications primaires de la Plateforme sont la fixation de tissus, l'inclusion (paraffine, O.C.T., EPON) et la congélation rapide, la réalisation de coupes (microtome, cryostat, ultramicrotome et cryo-ultramicrotome) et les colorations de routine (H&E, trichrome de Masson, uranyl-acétate et le citrate de plomb). Ces colorations sont généralement les premières étapes du processus permettant l'examen microscopique des tissus. L'équipe de la Plateforme offre aussi un service d'immunohistochimie, d'immunofluorescence et d'immunogold pour évaluer l'expression d'un constituant cellulaire et subcellulaire spécifique. Ces techniques peuvent aussi être associées à d'autres activités développées par la Plateforme comme la microdissection au laser.

La Plateforme est située sur deux sites à la Faculté de médecine et des sciences de la santé (FMSS) de l'Université de Sherbrooke. Le service d'histologie est situé au local Z8-2007 du Pavillon de Recherche appliquée au Cancer (PRAC). On y retrouve un microdissecteur laser couplé à un microscope inversé, un circulateur, un colorateur automatisé ainsi qu'un histocentre pour l'enrobage des tissus, un microtome et plusieurs équipements périphériques nécessaires pour les analyses tissulaires et cellulaires. Le service de microscopie électronique est localisé au local 9418 au 9e étage de l'aile 4 de la FMSS. On y retrouve un microscope électronique à transmission avec caméra digitale, un ultramicrotome, un cryo-ultramicrotome et un appareil à point critique (CPD, Critical Point Dryer). D'autres appareils spécialisés sont également disponibles par le biais du Centre de caractérisation des matériaux de l'Université de Sherbrooke comme la miscroscopie électronique à balayage.

Services spécifiques offerts par la Plateforme et tarification

- **Circulation des tissus:** Suite à une fixation dans la paraformaldéhyde, les tissus sont déshydratés afin de permettre leur inclusion dans la paraffine. Les tissus circulés à la Plateforme doivent être fixés dans la paraformaldhyde. Les tissus ayant été fixés par une autre méthode (Bouin, formaline, formol) seront traités de façon individuelle.

- **Préparation des tissus pour des analyses ultrastructurales:** Préparation standard, fixation, post-fixation, déshydratation, infiltration.

- **Inclusion de tissus dans la paraffine:** Suite à la circulation, les tissus sont inclus dans de la paraffine afin de permettre des coupes tissulaires très minces (4-5µm). Les tissus fixés suivant cette méthode ne peuvent pas êtres utilisés pour détecter les antigènes labiles ou isoler l'ADN/ARN (option: congélation des tissus frais).

- **Congélation des tissus frais:** les tissus frais sont inclus dans un composé « d'O.C.T. ». Cette technique solidifie les tissus permettant des coupes très minces. Les tissus non fixés et congelés conservent leur antigénicité mais démontrent une préservation morphologique inférieure. Ce type de congélation convient à la détection d'antigènes labiles et à l'isolement de l'ADN/ARN.

- **Préparation de tissus pour analyse d'immunolocalisation ultrastructurale:** Fixation légère des tissus et congélation rapide ou inclusion dans des résines permettant de préserver l'immunoréactivité des tissus.

- **Inclusion d'un tissu dans l'EPON:** Inclusion des échantillons biologiques dans l'EPON afin de réaliser des études morphologiques à l'échelle ultrastructurale.

- **Coupes histologiques au microtome:** Coupes tissulaires très minces (4-5µm) permettant les études morphologiques, histologiques et immunohistochimiques.

- **Coupes au cryostat:** Coupes tissulaires très minces (4-5µm) provenant de tissus frais congelés dans l'O.C.T. Permet d'obtenir un diagnostic rapide ou pallier aux problèmes de fixation menaçant l'intégrité des constituants cellulaires. Cependant, la morphologie des tissus n'est pas maintenue de manière optimale.

- **Coupes au ultramicrotome et cryo-ultramicrotome:** La coupe à l'ultramicrotome des spécimens biologiques est une étape préalable essentielle afin de produire des sections semi et ultra-fines (40-200 nm d'épaisseur). De plus, une cryo-chambre permet de couper à basse température. Ces sections peuvent ensuite être observées en microscopie électronique.

- **Coloration de routine:** Premières étapes du processus permettant l'examen microscopique des tissus pour identifier certains constituants cellulaires. Les colorations disponibles pour l'histologie sont l'hématoxyline et éosine, l'alcian bleu, l'acide périodique de Shiff, trichrome de Masson, Sirius Red et Oil red-O. Le développement de colorations particulières ou spécialisées est possible sur demande. Pour la microscopie électronique, les colorations disponibles sont l'uranyl-acétate et le citrate de plomb.

- **Microdissection au laser:** Permet d'isoler une sous-population de cellules au sein d'un environnement tissulaire complexe et procéder à des études plus poussées d'analyse de phénotype et de génotype.

- **Immuno-cytolocalisation:** Permet de déterminer la localisation cellulaire ou intracellulaire de protéines reconnues de manière spécifique par leur anticorps. Les techniques utilisées au niveau histologique sont l'immunohistochimie et l'immunofluorescence alors que pour la microscopie électronique, la technique requiert des anticorps marqué à l'or (immunogold).

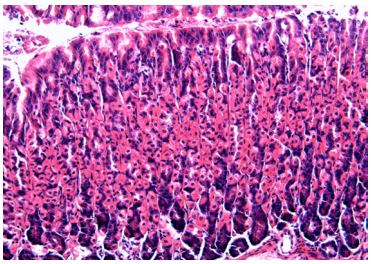
Les services de la Plateforme sont offerts aux membres de la FMSS à des tarifs préférentiels. Les coûts sont présentés dans le tableau de la page suivante pour les clients de la FMSS et des laboratoires académiques canadiens ou étrangers. Veuillez prendre contact avec la directrice des opérations de la Plateforme, Mme Anne Vézina (Anne.Vezina@USherbrooke.ca), pour une soumission individualisée ou pour des informations sur les tarifs pour les compagnies.

Catégorie	Service	Description	Unité	Prix FMSS ($)	Prix Académique U de S ($)
Paraffine	Circulation puis inclusion	Circulation à l'éthanol (inclusion de tissus dans un bloc de paraffine) Si moins de 5 lames demandées en moyenne par bloc aux 3 mois	Par cassette	4,25	4,25
		Circulation à l'éthanol (inclusion de tissus dans un bloc de paraffine) si 5 lames ou plus demandées en moyenne par bloc aux 3 mois	Par cassette	2,25	2,25
	Coupes séquentielles	Coupes à 4 µm (lames additionnelles du même bloc) si de 1 à 150 lames demandées en moyenne aux 3 mois	Par lame	1,50	1,50
		Coupes à 4 µm (lames additionnelles du même bloc) si de 151 à 375 lames demandées en moyenne aux 3 mois	Par lame	1,25	1,25
		Coupes à 4 µm (lames additionnelles du même bloc) si plus de 375 lames demandées en moyenne aux 3 mois	Par lame	1,00	1,00
	Coupes non séquentielles	Coupes à 4 µm 1ère lame du bloc	Par lame	5,25	5,25
		Coupes à 4 µm lames additionnelles du même bloc	Par lame	3,00	3,00
OCT	Coupes	Coupes à 3 µm 1ère lame du bloc	Par lame	4,00	4,00
		Coupes à 3 µm lames additionnelles du même bloc	Par lame	2,00	2,00
Coloration	Periodic Acid Schiff	Coloration sur coupe déjà existante	Par lame	3,75	3,75
	H&E	Coloration sur coupe déjà existante	Par lame	1,50	1,50
	Trichrome de Masson	Coloration sur coupe déjà existante	Par lame	5,00	5,00
	Alcian bleu	Coloration sur coupe déjà existante	Par lame	2,75	2,75
	Développement de nouvelle coloration	Coloration sur coupe déjà existante	Par lame	À déterminer	À déterminer
Microscopie Électronique	Préparation du tissu	Fixation, déshydratation, enrobage à l'épon, coupe ultrafine et coloration.	Par échantillon/ 1 coupe	Coût du matériel uniquement	80,00
	Cryocoupes	Coupe de matériel congelé à basse température	Minimum 3 heures	Coût du matériel uniquement	40,00/h
	Immunogold	Anticorps marqué à l'or pour observation de marquage cellulaire	Par échantillon	Coût du matériel uniquement	200,00
	Utilisation du microscope			40,00/h	40,00/h
LCM	Utilisation du LCM	Matériel fournis par l'tuilisateur		40,00/h	100,00/h

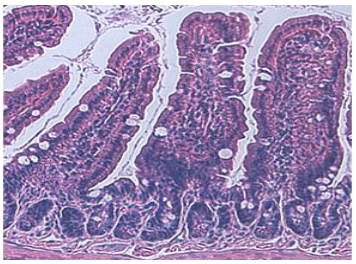
Pour toute information supplémentaire, vous pouvez contacter nos responsables scientifiques, Pr Nathalie Perreault (Nathalie.perreault@usherbrooke.ca) pour l'histologie ou Pr Jean-François Beaulieu (Jean-François.Beaulieu@usherbrooke.ca) pour la microscopie électronique. Vous pouvez aussi visiter notre site web : www.usherbrooke.ca/dep-anatomie-biologie-cellulaire/recherche/plateforme-danalyses/

Quelques exemples d'histologie de tissus en coloration H&E et de colorations de routine.

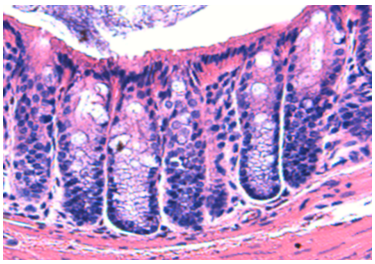
Estomac



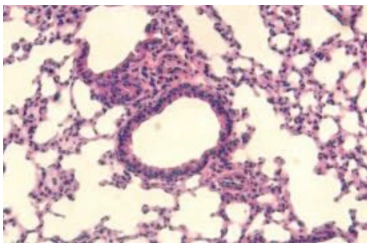
Intestin grêle



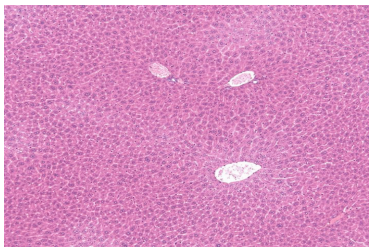
Côlon



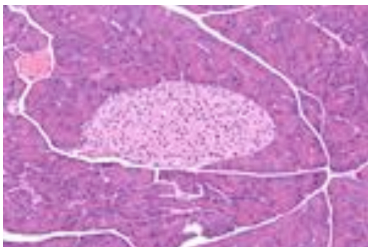
Poumons



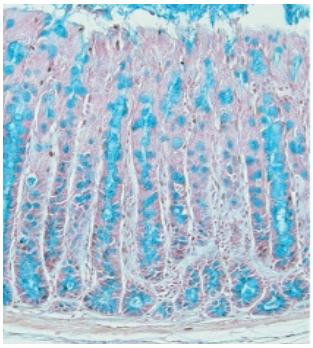
Foie



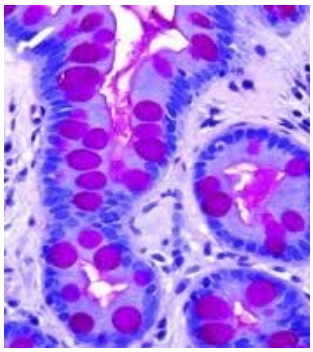
Pancréas



Alcian bleu

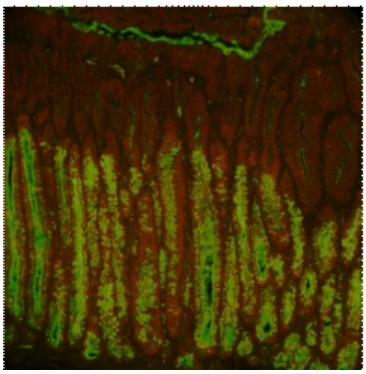


PAS

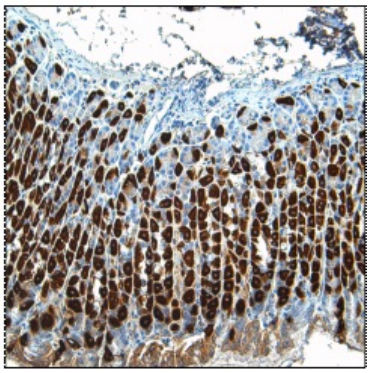


- **Visualisation et évaluation de constituants cellulaires spécifiques à l'aide d'anticorps par les techniques d'immunofluorescence et d'immunohistochimie.**

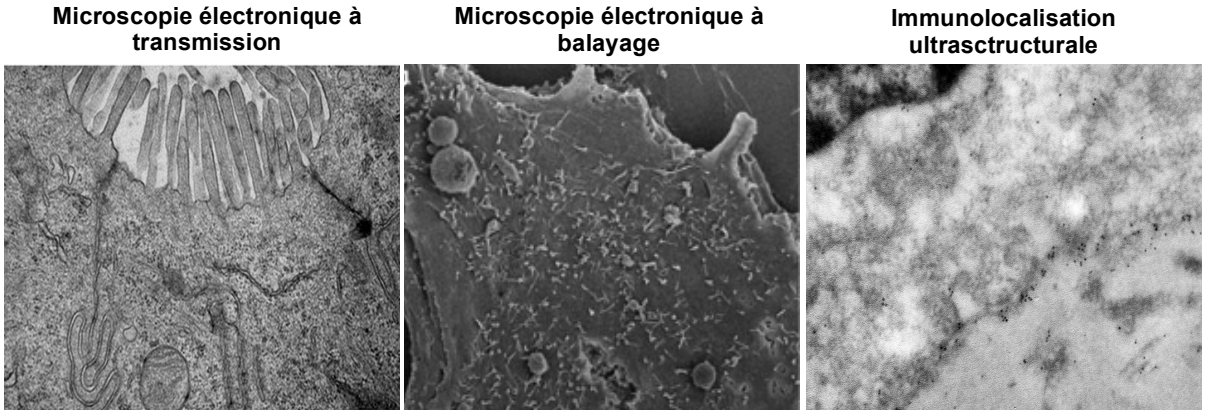
IF



IHC



- **Visualisation ultrastructurale de constituants cellulaires.**



Publications associées

1. Roy SAB, Langlois MJ, Carrier JC, Boudreau F, Rivard N and Perreault N. 2012. Dual regulatory role for Pten in specification of intestinal endocrine cell subtypes. World J of Gastro 18(14): 1579-1589.
2. Maloum F, Allaire JM, Gagné-Sansfaçon J, Roy E, Belleville K, Sarret P, Morisset J, Carrier JC, Mishina Y, Kaestner KH and Perreault N. 2011. Epithelial Bmp signaling is required for proper specification of epithelial cell lineages and gastric endocrine cells. Am J Physiol 300(6): G1065-79.
3. Allaire J, Darsigny M, Marcoux SS, Roy SAB, Schmouth JF, Umans L, Zwijsen A, Boudreau F and Perreault N. 2011. Loss of Smad5 leads to disassembly of the apical junctional complex and increasing susceptibility to experimental colitis. Am J Physiol 300 (4):G586-97.
4. Lussier CR, Brial F, Roy SAB, Langlois MJ, Verdu EF, Rivard N, Perreault N and Boudreau F. 2010. Loss of Hepatocyte-Nuclear-Factor-1α Impacts on adult mouse intestinal epithelial cell growth and cell lineages differentiation. PloS One 24 (8):12 378.
5. Benoit YD, Paré F, Francoeur C, Jean D, Tremblay E, Boudreau F, Escaffit E and Beaulieu JF. 2010. Cooperation between HNF-1alpha, Cdx2, and GATA-4 in initiating an enterocytic differentiation program in a normal human intestinal epithelial progenitor cell line. Am J Physiol 298 (4):G504-17.
6. Lussier CR, Babeu JP, Auclair BA, Perreault N and Boudreau F. 2008. Hepatocyte nuclear factor-4 alpha (HNF-4α) promotes differentiation of intestinal epithelial cells in co-culture system. Am J Physiol 294(2):G418-28.
7. Auclair BA, Benoit YD, Rivard N, Mishina Y and Perreault N. 2007. Bone morphogenetic protein signaling is essential for terminal differentiation of the intestinal secretory cell lineage. Gastroenterology 133: 887-896.
8. Boudreau F, Lussier CR, Mongrain S, Darsigny M, Drouin JL, Doyon G, Ran Suh E, Beaulieu JF, Rivard N and Perreault N. 2007. Loss of cathepsin L activity promotes claudin-1 overexpression and intestinal neoplasia. FASEB J 21(14): 3853-65.
9. Groulx JF, Gagné D, Benoit YD, Martel D, Basora N, Beaulieu JF. 2011. Collagen VI is a basement membrane component that regulates epithelial cell-fibronectin interactions. Matrix Biol. 30(3):195-206.