



Des Machines et des Hommes

Aujourd'hui, six chercheurs racontent comment ils allient savoirs, compétences et technologies de pointe. Près de 2 millions d'euros de subventions ont été attribués en 2009 au Grand réseau de recherche (GRR) I'IFRMP 23 et ont servi à mettre les meilleurs outils et machines à la disposition de toute la communauté scientifique de l'IFMP 23.

Éditorial

➤ Hubert Vaudry, directeur de l'IFRMP 23

Depuis sa création en 1994, avec la première vague des instituts fédératifs de recherche, l'IFRMP 23 a mis en place un important plateau technique constitué de la plate-forme de recherche en imagerie cellulaire de Haute-Normandie (PRIMACEN) et de la plate-forme de recherche en protéomique de l'IFRMP 23, toutes deux labellisées IBISA, ainsi que des services communs qui permettent à notre communauté scientifique et à de nombreux laboratoires extérieurs d'avoir accès à des équipements mutualisés à la pointe des performances actuelles.

A l'occasion du 150^e numéro de La Lettre de l'IFRMP 23, nous avons décidé de donner la parole à quelques chercheurs et ingénieurs qui ont été les maîtres d'œuvre de la structuration de ces plates-formes et services communs et en assurent actuellement le fonctionnement et le développement. Ce numéro spécial me donne aussi l'occasion de rendre hommage à toutes celles et ceux qui participent quotidiennement à la coordination, à la gestion et à l'animation de l'IFRMP 23 et de son plateau technique exceptionnel, et dont le dévouement force le respect et l'admiration.

Je tiens enfin à exprimer ma gratitude à nos partenaires – notamment la Région Haute-Normandie, le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, l'INSERM, le CNRS, les universités de Rouen et du Havre, l'Union européenne, le CHU de Rouen et le Centre anticancéreux Henri Becquerel – qui nous permettent d'acquérir ces Machines prestigieuses et de bénéficier de la compétence des Hommes qui en maîtrisent le fonctionnement. ●

PRIMACEN, une imagerie sans frontières

> REPÈRES

Équipements

Microscopes confocaux (dont un multiphotonique et un équipé d'un laser «blanc»), macroscopie confocale, microscope à ondes évanescentes, microscope électronique à transmission, microdissecteur laser, synthétiseurs de Peptides, spectrophotomètre robotisé (flexstation), spectromètre de masse MALDI-TOF.

> REPÈRES

Site

Faculté des sciences (Mont-Saint-Aignan).

Six services

Synthèse de peptides et de biomarqueurs ;
Criblage de molécules bioactives ; Microscopie conventionnelle et autoradiographie ;
Microscopie confocale et vidéomicroscopie ;
Microscopie électronique ; Microdissection et PCR quantitative.

Ludovic Galas devant un microscope confocal à balayage laser

Campus de Mont-Saint-Aignan, faculté des sciences, à l'étage de l'IFRMP 23. Les chercheurs s'activent. L'un visualise une molécule fluorescente, avec le macroscopie confocale ; d'autres se penchent sur une tranche de cerveau ou une micro-algue avec les microscopes confocaux, dont un multiphotonique et un équipé d'un laser «blanc». Ce chercheur qui s'intéresse aux maladies neurodégénératives développe et visualise chez la mouche des modèles d'expression des protéines pathologiques. D'autres encore, au sein du laboratoire international associé Samuel de Champlain, développent de nouvelles molécules contre les accidents vasculaires cérébraux, en utilisant différents services de la plate-forme : synthèse de peptides, microchirurgie, imagerie pour visualiser l'étendue de l'infarctus cérébral, analyse des métabolites de ces médicaments pour développer des produits stables...

Regroupement

Mutualiser, le maître-mot. Car tel est l'atout de PRIMACEN (Plate-forme régionale de Recherche en Imagerie Cellulaire de haute-Normandie) : «Le regroupement sur un même site des équipements et des moyens humains destinés à offrir à une communauté d'utilisateurs des ressources technologiques de haut niveau, dans un continuum technologique et scientifique», explique Ludovic Galas, directeur technique. Une vingtaine de personnes sont dédiées à cette plate-forme qui regroupe six services (Cf. Repères) qui vont de la synthèse de biomarqueurs et la préparation de molécules jusqu'à la localisation et la détermination de l'activité biologique des molécules d'intérêt. Résultat, de la molécule à l'animal entier, chimistes, biologistes et cliniciens peuvent travailler sur des échantillons biologiques très divers : bactéries, plantes, cellules animales ou cellules et tissus d'origine humaine.

A l'appui de ces recherches, des solutions d'imagerie adaptées aux différentes problématiques de recherche. PRIMACEN est l'une des plus grandes plates-formes d'imagerie cellulaire de France, qui en compte quinze, et la seule de niveau II européen, avec une quarantaine d'équipements de pointe. «L'enjeu est de développer des techniques de visualisation innovantes», souligne Ludovic Galas.

Avec les Émirats arabes unis, la Corée, le Japon, le Canada

Régionale, PRIMACEN dépasse les frontières : un quart de ses activités est lié à des projets en dehors de la France. Ainsi, des synthèses de biomarqueurs sont réalisées pour les Émirats arabes unis, des observations microscopiques s'opèrent sur des échantillons biologiques préparés en Corée, au Japon, au Canada...

Autre mission de la plate-forme, la formation. «Nous apportons une aide au développement des projets scientifiques mais nous assurons aussi des formations de haut niveau pour les étudiants comme pour les ingénieurs des secteurs public et privé», rappelle Hubert Vaudry, directeur scientifique. Et le Master professionnalisé «Imagerie pour la biologie» séduit : «Il n'y a pas une semaine où nous ne recevions une offre de poste, pour ingénieurs d'études, ingénieurs de vente et technico-commerciaux.»

Label IBISA

Reconnaissance de ces activités : l'attribution pour 2008-2011 du label IBISA*. PRIMACEN a répondu à un cahier des charges exigeant : excellence scientifique ; ouverture à la communauté scientifique nationale et internationale ; activités de formation ; valorisation ; démarche Qualité ou encore comptabilité analytique... Et a été sélectionnée lors de l'appel d'offres «Plates-formes 2008», par le groupement d'intérêt scientifique (GIS) IBISA. «C'est une reconnaissance de nos pairs, se réjouissent les deux directeurs. Le monde académique a rejoint le monde économique, avec les mêmes exigences de performances, de professionnalisme, de satisfaction clients, de concurrence et d'équilibre budgétaire.»

Aujourd'hui, PRIMACEN permet la réalisation de plus de 130 projets scientifiques, fédère une dizaine de projets de recherche autour des DYNAMIQUES CELLULAIRES et subcellulaires dans les processus physiologiques et pathologiques (DYNACELL), vise à renforcer les partenariats avec les industriels, à se rapprocher des autres plates-formes régionales «pour une dimension et une visibilité européennes» et se prépare à la certification ISO 9001. En 2013, elle se regroupera dans le nouveau bâtiment de recherches biologiques et biomédicales, construit par la Région Haute-Normandie, avec l'autre plate-forme de l'IFRMP 23, de Protéomique, elle aussi labellisée IBISA. Pour mieux échanger, partager, mutualiser. ●

* IBISA = Infrastructures en Biologie Santé et Agronomie. Le GIS (Groupement d'Intérêt Scientifique) IBISA, créé en 2007, regroupe l'INSERM, le CNRS, l'INRA, le CEA, l'INRIA, l'INCa (Institut National du Cancer), la CPU (Conférence des Présidents d'Université) et les deux directions du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche.



Plate-forme de recherche en protéomique

Comparaison peut être raison

Alexandra Galland et Philippe Chan mettent au point des méthodes de marquage des phosphoprotéines

> REPÈRES

Site

Faculté des sciences (Mont-Saint-Aignan).

Cinq services

Électrophorèse; Chromatographie; Spectrométrie de masse; Séquençage peptidique; Biophysique.

Équipements

Électrophorèse, spectrométrie de masse, excision et digestion des spots protéiques, séquençage chimique, empreinte peptidique, couplage électrophorèse capillaire trappe ionique, analyse d'image...

Cellule cancéreuse, extrait bactérien, liquide amniotique, feuille de palmier ou encore moule d'eau douce : ces échantillons biologiques sont livrés à la plate-forme de recherche en protéomique de l'IFRMP 23, à l'université de Rouen. Là, une douzaine de chercheurs et ingénieurs étudient, répertorient, caractérisent et cartographient les protéines contenues dans le tissu ou la cellule. «Nous comparons entre eux deux états d'une cellule -maligne et bénigne, polluée et non polluée...», explique Thierry Jouenne, directeur de recherche au CNRS et responsable scientifique de la plate-forme. Cela nous permet ainsi, dans le domaine de la santé, de rechercher et d'identifier des marqueurs de pathogénicité, d'aider au diagnostic, enfin, à terme, de trouver de nouvelles cibles moléculaires.»

Marqueurs du développement cancéreux

Les problématiques scientifiques pour lesquelles sont réalisées l'extraction et l'identification des protéines sont variées : microbiologie, neurosciences, physiologie/biologie humaine, biotechnologies végétales. Par exemple, pour ce laboratoire, il s'agit de comparer l'expression protéique d'échantillons biologiques afin de trouver les marqueurs précoces d'un développement cancéreux : le profil d'expression protéique est la signature moléculaire de la tumeur. Autre exemple : avec le CHU de Rouen, sur un modèle souris, les chercheurs étudient l'impact de l'alcool sur le cerveau du fœtus, ou encore l'impact d'un traitement de la polyarthrite rhumatoïde au niveau de l'expression protéique. Selon les résultats,

si des marqueurs prédictifs du traitement sont mis en évidence, le médecin orientera alors les traitements. Cela permet de faciliter le dépistage, le suivi thérapeutique et de fournir des informations pour le pronostic. En amont, ces analyses permettent de détecter des marqueurs précoces ou des protéines cibles exprimées spécifiquement par un type cellulaire, et ensuite de développer des inhibiteurs visant ces cibles.

Sexe du palmier-dattier et pollution du lin

Autre application, l'environnement. Ainsi, l'équipe analyse l'impact de certains polluants sur le contenu protéique de la moule, marine ou d'eau douce, qui est un animal filtreur. Ce travail est mené avec les laboratoires d'éco-toxicologie du Havre et de Metz, afin de définir des marqueurs de micropollution.

En perspectives, une meilleure connaissance de l'incidence sur la santé des faibles doses des micropolluants et la mise en conformité avec les normes environnementales européennes. L'impact des métaux lourds sur le lin est également analysé, avec le laboratoire Glycobiologie et Matrices cellulaires végétales de l'université de Rouen. Avec un laboratoire de la faculté des

sciences de Tunis, l'équipe de la plate-forme travaille sur le protéome du palmier-dattier pour l'identification du sexe de la plante. Les enjeux sont importants : la plantation se fait encore au hasard et ce n'est qu'après cinq ans, lors de la floraison, que les palmeraies sont réaménagées en fonction des palmiers mâles pollinisateurs, identifiés par leur floraison. Il s'agit donc de comparer les plantes, chercher des protéines spécifiquement exprimées par le pollinisateur et découvrir un marqueur du sexe. Des travaux productifs : l'université de Rouen devrait déposer conjointement avec l'université El Manar de Tunis et la technopole de Borj Cedria (Tunisie) une déclaration d'invention sur la caractérisation d'un marqueur du sexe du palmier.



Thierry Jouenne comparant des gels d'électrophorèse sur un fluoroimager



Label IBISA et certification ISO 9001

Ces études du contenu protéique des cellules et des changements induits par un agent pathogène sont rendues possibles grâce à des équipements de pointe. Seule en Normandie, la plate-forme localisée à Mont-Saint-Aignan opère sur un parc instrumental de deux millions d'euros de matériel, financé par la Région et l'Etat. Elle peut ainsi répondre aux demandes d'analyses des laboratoires de recherche de l'IFRMP 23 mais aussi des laboratoires régionaux, nationaux

aussi bien que du monde entier, et participer à divers programmes de recherche et réseaux. La plate-forme s'implique également dans le développement technologique. Au programme, l'élaboration de nouvelles sondes fluorescentes et l'utilisation d'une technique de marquage iTRAQ pour quantifier la variation relative du phosphoprotéome par spectrométrie de masse. L'obtention en 2008 du label IBISA «nous assure la reconnaissance du

niveau international de nos équipements, de notre capacité de réponse et de notre qualité, qui passe entre autres par la traçabilité des échantillons», se réjouit Thierry Jouenne. Autre reconnaissance, celle de la politique Qualité de la plate-forme qui devrait, en 2010, être certifiée ISO 9001:2000. En 2013, l'équipe déménagera, avec la plate-forme de recherche PRIMACEN, dans le bâtiment flambant neuf de la faculté des sciences. ●

Triage à très grande vitesse

20000 cellules par seconde, contre 2 000 il y a une dizaine d'années : c'est à très grande vitesse que les cellules défilent une à une devant le faisceau laser pour être identifiées, triées, isolées, mesurées et analysées. Plusieurs cytomètres dont un trieur de cellules sont disponibles dans le service commun de cytométrie développé sur le campus hospitalo-universitaire de Rouen, sous la responsabilité scientifique et technique d'Olivier Boyer et Sahil Adriouch. Parmi ses objectifs : «Mettre au point les procédés qui déboucheront sur la production de cellules-médicaments pour les essais cliniques», résume Olivier Boyer. Et ce, pour des activités de thérapies cellulaire et génique, en collaboration avec le CHU de Rouen, l'Etablissement français du sang et le Centre régional de lutte contre le cancer (CRLCC) Henri Becquerel.

Thérapie cellulaire

Un exemple d'application, l'utilisation de cellules musculaires autologues (par autogreffe) : des cellules souches extraites de fragment musculaire sont produites, caractérisées par cytométrie en flux puis seront injectées à des patients pour réparer un muscle lésé. Ainsi, un essai de thérapie cellulaire (injection intra-sphinctérienne de myoblastes autologues) va être réalisé avec le service de chirurgie digestive de Francis Michot, dans le cadre du programme de recherche mis en place pour une problématique de santé publique, l'incontinence anale. Cette cause de handicap touche près de 800 000 personnes en France, notamment les femmes jeunes à l'issue d'un accouchement.

> REPÈRES

Site
Faculté de médecine et de pharmacie (Martainville).
Équipements
Échographie, imagerie par résonance magnétique (IRM), imagerie nucléaire (micro SPECT-CT).



Olivier Boyer, devant un trieur de cellules à haute vitesse

> REPÈRES

Site
Faculté de médecine et de pharmacie (Martainville).
Équipements
Analyseurs
Trieur de cellules.

Car la cytométrie en flux permet, de façon qualitative et quantitative, d'analyser la nature et les caractéristiques de sous-populations cellulaires complexes et/ou rares, voire de les trier pour ensuite les mettre en culture ou encore les étudier avec des outils de biologie moléculaire. Principal avantage : la vitesse d'acquisition des données. Ces équipements sont mis à la disposition des différentes unités de l'IFRMP 23 dans des domaines variés : immunologie, système cardiovasculaire, immunothérapie du cancer, immunité digestive, cellules gliales du système nerveux...

«Sur ces équipements, explique Sahil Adriouch, nous formons une personne référente par laboratoire. Pour utiliser le tri cellulaire, une technologie très délicate à manipuler, nous mettons en place des collaborations scientifiques.» Olivier Boyer le souligne, «l'immunologie et les biothérapies sont des activités transversales qui reposent sur de fortes interactions entre clinique, biologie et recherche». ●

Service commun d'imagerie in vivo du petit animal

Image haute résolution

Christian Thuillez est catégorique : «Il est impossible d'imaginer une structure de recherche comprenant cinq unités Inserm et plusieurs équipes d'accueil tournées

vers la recherche bio-médicale, soit près de 200 chercheurs et enseignants-chercheurs regroupés sur un même site, sans une imagerie in vivo.» Le directeur de l'Unité Inserm 644 résume : «Cela nous permet de passer du stade de la génétique puis de la biologie in vitro vers la recherche in vivo.» Celle-ci précède les essais cliniques mais, «in fine, cette recherche est dédiée à l'homme, dans le cadre de la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques».

Vers de nouveaux diagnostics ou moyens thérapeutiques

Opérationnel depuis mai 2009 grâce à un investissement de plus de deux millions d'euros sur la base d'un partenariat public-privé, ce plateau technique d'imagerie in vivo du petit animal de l'IFRMP 23, implanté au cœur de la faculté de médecine et de pharmacie et de l'Institut hospitalo-universitaire (IHU) de Rouen, a plusieurs atouts : des équipements hautement performants d'imagerie anatomique, métabolique et fonctionnelle à haute résolution spatiale et temporelle qui apportent des informations aussi bien sur la morphologie que sur la fonction ; une insertion dans



Christian Thuillez réalise l'échographie du cœur d'un rat



l'animalerie de la faculté qui favorise des études séquentielles dans le temps et de façon itérative, enfin sa localisation dans un même bâtiment qui regroupe l'ensemble des unités de recherche, «en complémentarité avec les plates-formes de recherche en imagerie cellulaire, protéomique et génomique de l'IFRMP 23», rappelle Christian Thuillez. Et ce, pour des domaines variés : cardiovasculaire, immunologie, neuroprotection, nutrition et pathologie ventilatoire.

Ces technologies de pointe permettent aussi bien de visualiser la morphologie, la structure et l'évaluation fonctionnelle

du myocarde que d'évaluer et calculer le débit cardiaque à partir de marqueurs visuels, tout comme d'analyser les effets neuroprotecteurs des peptides et chercher de nouveaux marqueurs moléculaires du métabolisme tissulaire... Outre l'Unité Inserm 644, la plate-forme est mise à la disposition des équipes de recherche, notamment de Neuroendocrinologie cellulaire et moléculaire (Unité Inserm 982), Physiopathologie et biothérapies des maladies inflammatoires (Unité Inserm 905), du Groupe de recherche sur le handicap ventilatoire (GHRV), de l'équipe d'accueil Neovasc sur le développement cérébral... Le tout en lien avec

le Laboratoire d'informatique, de traitement de l'information et des systèmes (LITIS) et, en amont, avec l'Institut de recherche en chimie organique fine (IRCOF) pour l'identification de nouveaux marqueurs moléculaires.

Des contrats sont signés avec divers organismes publics et industriels. En perspectives, l'évaluation de nouveaux diagnostics ou de nouvelles cibles thérapeutiques. La découverte d'une nouvelle molécule aux propriétés protectrices des vaisseaux (inhibiteur de phosphatase 1B) et de la fonction myocardique a ainsi fait l'objet d'un dépôt de brevet. ●

Le Centre d'investigation clinique (CIC)

... Jusqu'au lit du patient

Au rez-de-chaussée du CHU de Rouen, un service d'accueil, quelques chambres, des salles de consultation : de dix à quinze personnes sont reçues chaque semaine au Centre d'investigation clinique (CIC). Ici, on teste la tolérance ou l'innocuité de nouvelles molécules et on vérifie l'efficacité des futurs médicaments sur les volontaires, sains ou malades, inscrits dans un protocole de recherche qui peut durer de six mois à deux ans.

Cette structure CHU-Inserm est à la disposition des investigateurs, pour moitié des industriels et pour moitié la communauté hospitalo-universitaire et les réseaux CIC au niveau national. «Notre mission est de professionnaliser la recherche clinique et de développer la recherche translationnelle qui nous permet de passer de la recherche fondamentale à l'application clinique chez l'homme», explique Jacques Weber, médecin coordonnateur du CIC. Et ce, «dans un but ultime : l'amélioration de la qualité des soins».

la stimulation du cortex cérébral dans le cas des anorexies mentales ; l'efficacité d'une nouvelle molécule sur la crise d'épilepsie ; la réduction de l'inconfort intestinal, ou encore, suite à un appel d'offres de l'Inserm, une aide méthodologique pour monter un protocole d'étude épidémiologique...

Recherche translationnelle

De 2004 à 2007, 61 protocoles de recherche ont été menés, en conformité avec les Bonnes Pratiques Cliniques et dans un cadre légal. A l'actif du CIC, l'aide au recrutement des sujets volontaires, l'élaboration des protocoles d'expérimentation, l'encadrement, le suivi et le contrôle des essais (avec placebo, principe

actif, médicament de référence) comme les autorisations de la CNIL pour établir une base de données et les tests statistiques... «Il faut deux ans entre l'idée scientifique et l'application d'un protocole», note Jacques Weber qui travaille aussi avec le centre de ressources biologiques du CHU, pour la conservation des échantillons.

En 2008, le centre a vu son label renouvelé pour quatre ans par le comité d'évaluation, composé d'hospitalo-universitaires et de chercheurs nommés par l'Inserm et la Direction de l'hospitalisation et de l'organisation des soins (DHOS). Parmi les objectifs du CIC pour 2010, un budget de 600 000 euros et le développement de la recherche translationnelle avec les unités labellisées du site hospitalo-universitaire. ●

Pluri-thématique

Il faut compter plus de dix ans entre la découverte d'une molécule et la mise sur le marché d'un médicament. Dans ce processus long et complexe, un stade est capital : la recherche clinique. A Rouen, le CIC se veut pluri-thématique. Les protocoles portent donc sur des projets de recherche variés, essentiellement en neuroendocrinologie, cardiovasculaire, immunité-inflammation-cancer. Composée de praticiens, infirmiers, ingénieurs, techniciens, aides-soignantes, l'équipe travaille sur diverses problématiques : les effets de la vaccination contre la grippe A sur des patients atteints de la maladie de Crohn ; le rôle de marqueurs de développement tumoral de certains peptides ;

> REPÈRES

Site
CHU de Rouen (Martainville).



Jacques Weber
au centre d'investigation clinique