

Séance du 4 mai 2018

Examen de demandes de financement CPER FEDER

Le Conseil d'administration

- Vu le Code de l'éducation ;
- Vu les Statuts de l'Université de Poitiers ;
- Vu les délibérations n° 20180405-1, n° 20180405-2, n° 20180405-3, n° 20180405-4, n° 20180405-5 et n° 20180405-6 adoptées par la Commission de la Recherche en date du 5 avril 2018 portant avis favorable à l'unanimité aux projets présentés au titre de financement CPER FEDER ;
- Vu les documents adressés au Conseil d'administration ;
- Vu la proposition présentée en Conseil d'administration ;

Après en avoir délibéré,

ADOPTE

Article 1^{er} : ECOPRODURA : ECO-PROcédés catalytiques DURABLEs

L'opération et le plan de financement CPER FEDER, pour le programme « ECOPRODURA : ECO-PROcédés catalytiques DURABLEs », avant soumission au Comité régional de Programmation, sont approuvés, conformément aux pièces-jointes.

Article 2 : BACASMET : BANC de CARactérisation Structurale : Microscopie Electronique en Transmission

L'opération et le plan de financement CPER FEDER, pour le programme « BACASMET : BANC de CARactérisation Structurale : Microscopie Electronique en Transmission », avant soumission au Comité régional de Programmation, sont approuvés, conformément aux pièces-jointes.

Article 3 : MICROBIOS 2 : Etude des microorganismes pathogènes dans l'eau

L'opération et le plan de financement CPER FEDER, pour le programme « MICROBIOS 2 : Etude des microorganismes pathogènes dans l'eau », avant soumission au Comité régional de Programmation, sont approuvés, conformément aux pièces-jointes.

Article 4 : MRVI : Microscopie haute Résolution pour le Vivant

L'opération et le plan de financement CPER FEDER, pour le programme « MRVI : Microscopie haute Résolution pour le Vivant », avant soumission au Comité régional de Programmation, sont approuvés, conformément aux pièces-jointes.

Article 5 : SURIKAT : Stem cells from URIne for Kidney Transplantation

L'opération et le plan de financement CPER FEDER, pour le programme « SURIKAT : Stem cells from URIne for Kidney Transplantation », avant soumission au Comité régional de Programmation, sont approuvés, conformément aux pièces-jointes.

Article 6 : Evaluation de la thérapie cellulaire appliquée au cerveau par Vidéotracking

L'opération et le plan de financement CPER FEDER, pour le programme « Article 6 : Evaluation de la thérapie cellulaire appliquée au cerveau par Vidéotracking », avant soumission au Comité régional de Programmation, sont approuvés, conformément aux pièces-jointes.

Article 7 : Décompte des voix

La présente délibération est adoptée à l'unanimité.

Fait à Poitiers, le 4 mai 2018
Le Président de l'Université de Poitiers

UNIVERSITE DE POITIERS

22 MAI 2018

Yves JEAN

Transmis à Monsieur le Recteur, Chancelier des Universités, le

Direction des affaires juridiques

Page 1 sur 1

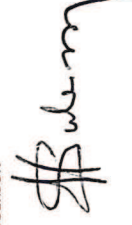
Vu le code de l'éducation,
Vu les statuts de l'université de Poitiers,
Vu les propositions du Président,

DATE DE LA CR	05/04/2018
---------------	------------

DELIBERATION CR N°	THEMATIQUE	OBIET	MESURE PROPOSEE A LA DELIBERATION	DEBUT D'APPLICATION DE LA MESURE	FIN DE LA MESURE	PRESENTS OU REPRESENTES	DELIBERATION CR	OBSERVATION
20180405-1	CPER-FEDER	Demande de financement FEDER	Approbation de l'opération et du plan de financement du projet du programme CPER ECONAT "ECOPRODURA : Eco-procédés catalytiques durables"	05/04/2018		22	Favorable à l'unanimité	
20180405-2	CPER-FEDER	Demande de financement FEDER	Approbation de l'opération et du plan de financement du projet du programme CPER TRANSPORTS "BACASMET : Banc de caractérisation structurale - Microcopie électronique en transmission"	05/04/2018		22	Favorable à l'unanimité	
20180405-3	CPER-FEDER	Demande de financement FEDER	Approbation de l'opération et du plan de financement du projet du programme CPER HABISAN "MICROBIOS 2 : Etude des microorganismes pathogènes dans l'eau"	05/04/2018		22	Favorable à l'unanimité	
20180405-4	CPER-FEDER	Demande de financement FEDER	Approbation de l'opération et du plan de financement du projet du programme CPER HABISAN "MRVI : Microscopie haute résolution pour le vivant"	05/04/2018		22	Favorable à l'unanimité	
20180405-5	CPER-FEDER	Demande de financement FEDER	Approbation de l'opération et du plan de financement du projet du programme CPER HABISAN "SURIKAT : Stem cells from urine for kidney transplantation - Potentiel des cellules souches d'origine urinaire pour limiter les lésions d'ischémie reperfusion en transplantation rénale : tests in vitro, ex vivo pour le reconditionnement d'organe et in vivo dans un modèle porcine d'auto-transplantation rénale"	05/04/2018		22	Favorable à l'unanimité	
20180405-6	CPER-FEDER	Demande de financement FEDER	Approbation de l'opération et du plan de financement du projet du programme CPER HABISAN "Evaluation de la thérapie cellulaire appliquée au cerveau par vidéotracking"	05/04/2018		22	Favorable à l'unanimité	

Fait à Poitiers, le 6 avril 2018
Le président de séance

Serge HUBERSON





Réunion de la Commission Recherche
Séance du 15 février 2018

Dossier CPER / FEDER pour approbation de l'opération et du plan de financement
avant soumission au Comité régional de Programmation

<i>ECOPRODURA : ECO-PROCédés catalytiques DURables</i>

Porteur : Yannick POUILLOUX

Période prévisionnelle d'exécution : Du 01/09/2018 au 31/12/2020

Description de l'opération :

Le **programme ECONAT** s'inscrit dans une stratégie d'excellence environnementale et de transition écologique. Ce programme aborde des thématiques portant sur la chimie durable et la gestion de ressources naturelles.

L'axe 3 est organisé autour de deux thèmes (chimie verte et ressources durables) qui sont interconnectés car le développement de procédés propres par exemple concerne aussi bien la chimie durable que le traitement d'effluent aqueux. De la même façon la gestion de la ressource naturelle est un point important qui est pris en compte dans la valorisation de la biomasse.

Une des deux thématiques de l'axe 3 est focalisée sur le développement de procédés éco-efficients pour réduire l'impact environnemental des procédés classiques de chimie. Cela concerne aussi bien la transformation de composés organiques d'origine renouvelable ou recyclable que les procédés de remédiation ou de la valorisation de sous produits ou co-produits.

L'objectif est de proposer des solutions technologiques originales en adaptant les usages pour limiter les impacts négatifs de l'activité humaine sur l'environnement (rejets urbains, industrie chimique, agriculture, énergie) et de gérer durablement ces ressources, dans un contexte de raréfaction/dégradation.

Il s'agit aussi bien de mise au point de procédés catalytiques économes et innovants en suivant le concept de chimie verte pour répondre aux impératifs de compétitivité économique et de progrès social, de remédier aux nouvelles pollutions en mettant au point des procédés éco-efficients de traitement (catalytiques, membranaires, plasma...), valorisant les déchets et les résidus de traitement.

Le laboratoire IC2MP a acquis une grande expérience reconnue internationalement dans le cadre de la chimie durable et développement de procédés catalytiques permettant de limiter la consommation énergétique, la production et le rejet de sous-produits ou déchets au cours de la transformation de molécules organiques souvent issus de la biomasse mais qui peuvent également provenir du recyclage de déchets. Cela sous-entend de préparer de nouveaux systèmes catalytiques à base d'oxydes ou de métaux de transitions limitant l'utilisation de métaux précieux. L'optimisation des procédés catalytiques passe également par la mise en forme de catalyseur pour augmenter l'efficacité des procédés catalytiques.

Les actions menées dans ce projet visent à développer de nouveaux réacteurs (**réacteur dynamique sous haute pression, réacteur autoclave ou hydrogénateur**) couplés à des systèmes analytiques pour l'identification et le suivi cinétique des réactions de transformation des composés (**chromatographies en phase gaz couplé à un générateur ou phase liquide et spectropolarimètre dichroïsme circulaire**). Il est nécessaire de préparer et mettre en forme de nouveaux matériaux (**serigraphieuse, broyeur, atomiseur et bain thermostatique et four**) et de les caractériser avec les dernières techniques en pointe dans le domaine (**Diffraction de rayon X, analyseur Infra-Rouge, chambre XPS et compensateur**).

Le thème 1 « Chimie Verte » de l'axe 3 du programme ECONAT est focalisé sur le développement de procédés propres et éco-efficacités pour limiter les coûts énergétiques et les rejets ou l'utilisation de solvants toxiques pour la transformation de composés biosourcés (carbone renouvelable plutôt que carbone fossile). Cette thématique implique qu'il faille repenser les procédés actuels pour les adapter à la transformation de composés issus de la biomasse ou de sous-produits de l'industrie chimique pour la conception de molécules à forte valeur ajoutée. La réduction voire l'élimination des substances et des solvants toxiques représente un défi de taille. Les procédés devront être durables et innovants et seront probablement alternatifs. L'aspect mise en forme des catalyseurs est un paramètre important qui permet de gagner en efficacité tout en conservant les propriétés catalytiques originelles.

Les actions porteront sur le développement de sources alternatives permettant d'accroître la durabilité des procédés en développant des nouvelles sources énergétiques (hydrogène par reformage ou vapo reformage de polyols, biogaz, carburants verts). Il est également nécessaire de concevoir de nouveaux catalyseurs permettant d'améliorer l'efficacité des procédés pour plus d'activité, de rendement et de stabilité. De plus, l'utilisation de catalyseurs à base de métaux non nobles est un des enjeux majeurs de la catalyse pour palier la raréfaction des métaux précieux (platine, palladium). Par ailleurs, il faut adapter la porosité (multi-échelle) des catalyseurs à la taille des molécules constituant la biomasse. La recherche de catalyseurs stables dans les conditions de réaction choisie (phase gaz ou phase liquide) et plus adaptés à la présence de molécules fortement oxygénées représente également un enjeu majeur de la catalyse. Il faut donc mettre en place de nouvelles méthodes de préparation adaptées au design de catalyseur souhaité. Il faut en même temps développer de nouvelles techniques d'analyses permettant de caractériser, en temps quasi réel et de manière très fine, les matériaux synthétisés et les réactions chimiques ayant lieu à leurs surfaces.

L'accent sera mis sur l'utilisation de techniques d'activation originale tels que les micro-ondes, la sonochimie ou encore le plasma pour le fractionnement de la biomasse lignocellulosique et/ou leur fonctionnalisation de surface. Une évaluation sera faite sur le potentiel de rupture offert par l'utilisation de ces technologies d'activation non-thermiques à la fois pour la transformation de la biomasse mais également pour sa fonctionnalisation chimique. Par rapport aux procédés actuels, ces technologies présentent des avantages notables que sont (i) une très faible consommation d'eau (problème actuel des bioraffineries classiques), (ii) l'absence de source de chauffage (l'énergie est apportée par le traitement mécanique ou physique) et (iii) une sélectivité importante limitant ainsi la production de produits secondaires souvent néfaste pour l'environnement. Le couplage de ces technologies avec les procédés classiques sera également envisagé afin de positionner ces technologies dans un contexte de bioraffinerie. La recherche de biosolvants pour les réactions en réacteur batch représente un axe également prometteur dans le domaine de la catalyse notamment pour adapter les catalyseurs usuels à la variabilité structurale de la biomasse, augmenter les contacts entre biomasse et catalyseur et faciliter l'extraction des produits en fin de réaction ainsi que le recyclage des catalyseurs. Les produits issus de ces travaux visent plus particulièrement le marché des tensioactifs, un marché mondial avec un énorme potentiel en termes de développement de produits et d'emplois et pour lequel la demande des industriels et du consommateur pour des technologies issues de la chimie verte est forte.

L'expertise scientifique de l'IC2MP reconnue nationalement et internationalement et la mise en place de la fédération INCREASE permettra de mener à bien ce projet en s'appuyant sur le potentiel humain et technique de l'institut.

Pour l'Université de Poitiers, les résultats escomptés sont :

- d'améliorer les plateformes analytiques permettant de caractériser les matériaux en s'équipant des technologies les plus performantes.
- de renforcer l'expertise technique dans le domaine des matériaux, de leur préparation et des caractérisations associées permettant de proposer aux industriels en région ou au niveau national et international notre savoir-faire.
- de développer de nouvelles compétences dans la transformation de molécules issues de la biomasse qui nous permettront de mettre sur le marché de nouvelles molécules répondant à un cahier des charges plus respectueux de l'environnement.
- de renforcer le niveau des publications dans des grandes revues internationales plus généralistes ou de pouvoir déposer des brevets permettant le licensing.
- de favoriser les collaborations avec les industriels (INCREASE et plus).
- de maintenir un haut niveau de formation des étudiants en leur permettant d'utiliser des appareils de très haute technicité.

Pour la période 2017-2019, nous travaillerons principalement sur l'action 3 du thème chimie verte. Nous étudierons plus précisément le développement de procédés propres et efficaces :

Les actions à mener porteront sur l'étude de nouveaux procédés catalytiques éco-efficaces pour la transformation de composés biosourcés. Cela nécessite de concevoir de nouveaux réacteurs (continus ou batch) et matériaux catalytiques. Pour mener à bien le projet il est nécessaire :

- d'étudier les différents paramètres cinétiques (température, pression, temps de contact, VVH) qui interviennent pendant la réaction et d'évaluer leur influence sur l'activité et la sélectivité. Les résultats obtenus permettront d'optimiser les conditions de réaction pour améliorer l'efficacité du procédé
- d'évaluer l'efficacité de nouvelles technologies d'activation des molécules organiques issues de la biomasse (électrochimie, sonochimie, microondes, broyage réactif)
- de concevoir et/ou d'optimiser de nouveaux matériaux présentant des propriétés acido-basiques et/ou redox. Le design de ces catalyseurs doit prendre en compte le support et la phase active qu'il faut choisir pour chaque réaction de manière judicieuse pour obtenir des performances supérieures.
- de mettre en forme les nouveaux matériaux afin d'évaluer les problèmes de diffusion extra- et intragranulaire et leur influence sur les performances catalytiques.

La réalisation et le suivi de ce projet implique l'achat :

- de nouveaux **réacteurs catalytiques** permettant de travailler à haute pression et haute température en **continu (flux continu et hydrogénateur)** ou en **batch (autoclaves)**.
- **d'appareils de chromatographie de paillasse (CPG)** pour l'analyse et le suivi de la cinétique de réaction. Les produits issus de la biomasse présentent souvent des centres chiraux qui peuvent conduire à l'un ou l'autre des isomères optiques, l'acquisition d'appareil d'analyse de la chiralité des molécules (**spectropolarimètre dichroïsme circulaire**) permettra d'évaluer ce paramètre.

Cette action nécessite l'acquisition d'équipements permettant de caractériser les matériaux synthétisés et de mesurer leurs propriétés structurales et texturales :

- un ensemble de **diffraction de Rayon-X (DRX)** pour déterminer la structure et la répartition des phases dans nos matériaux : cet appareil fournit des diffractogrammes qui permettent de déterminer la nature des phases, le paramètre de maille et la taille des particules. Cela permettra d'évaluer également le vieillissement des matériaux catalytiques lors des tests catalytiques et leur stabilité. C'est un outil également indispensable pour analyser la structure des argiles.

- une chambre de prétraitement pour la spectroscopie *XPS* (X-Ray Photoelectron Spectroscopy) pour pouvoir analyser les échantillons dans des conditions plus proches du test catalytique.
- un **spectromètre Infrarouge** pour déterminer les propriétés de surface des matériaux. De nombreux solides sont préparés et utilisés dans l'institut. Pour bien caractériser la surface des matériaux, la technique IR/FT est une technique de pointe très adaptée pour déterminer soit la nature des sites actifs présents à la surface du solide soit par adsorption de molécule sonde de mesurer l'acido-basicité ou le caractère redox d'un solide. Le renouvellement de ces appareils permettra de maintenir un haut niveau de technicité dans le laboratoire.
- dans le cadre de la plateforme PREMIMAT dédié à la synthèse de catalyseur, il est nécessaire de s'équiper d'un four, **d'une serigraphieuse, d'un bain thermostatique très basse température (- 80°C)** pour la synthèse de zéolithes ou solides mésoporeux. Pour la mise en forme des poudres sous d'autres formes, il est nécessaire d'avoir **un atomiseur** permettant un séchage très rapide et **un broyeur tricylindre**.

Nombre de chercheurs recrutés / affectés : 7

Coût total : 1 175 586 euros HT

Montant de l'aide européenne sollicitée : 806 586 euros, soit 68.61 % du coût du projet

Autre financement public sollicité sur l'opération : 369 000 euros (CPER part Région)

Financements privés : /

Autofinancement : /

Axe / objectif thématique / objectif spécifique mobilisé : principal : Axe 1 / OT 1 / PI 1a / OS 1a

Programme CPER : ECONAT



Réunion de la Commission Recherche
Séance du 15 février 2018

Dossier CPER / FEDER pour approbation de l'opération et du plan de financement
avant soumission au Comité régional de Programmation

<i>BACASMET : BAnc de CAractérisation Structurale : Microscopie Electronique en Transmission</i>

Porteur : Anne JOULAIN

Période prévisionnelle d'exécution : Du 01/09/2018 au 31/12/2020

Description de l'opération :

La question de l'allègement des équipements (structures et équipement fonctionnels) est un enjeu essentiel dans le domaine des transports pour des raisons aussi bien environnementales qu'économiques. La recherche en matériaux est une des pistes mais c'est un défi considérable : ces matériaux innovants devront présenter des propriétés physiques hors du commun permettant des structures plus légères avec des performances physiques identiques voire supérieures aux matériaux utilisés actuellement. C'est désormais **le couplage entre différentes propriétés**, électriques et mécaniques (câbles électriques) et/ou thermiques et mécaniques (drains thermiques, matériaux de structures), qu'il est désormais nécessaire de maîtriser faisant émerger de nouvelles problématiques. Les propriétés des matériaux étant fortement corrélées à leur microstructure (structure cristallographique, composition, défauts), l'objectif final est d'optimiser la synthèse de ces nouveaux matériaux par la maîtrise des relations microstructures/propriétés.

Le projet présenté ici vise à déployer une nouvelle plateforme de caractérisation des matériaux massifs de l'échelle micro- à nanométrique, par *microscopie électronique en transmission*.

Le Département Physique et Mécanique des Matériaux de l'institut Pprime est un laboratoire très reconnu pour ses compétences en **microscopie électronique en transmission** (MET). La MET est une méthode d'analyse des matériaux donnant accès à des informations structurales et/ou chimiques en volume de l'échelle microscopique à l'échelle atomique (Microscopie Haute Résolution) : répartition des phases en présence, analyse des défauts individuels ou de leur organisation collective, problèmes d'interface ou de physique du solide aux échelles les plus fines où se déroulent les mécanismes physiques élémentaires.

Il s'agit ici d'acquérir un microscope **versatile** et **accessible**, afin d'accéder **rapidement** à des **caractérisations couplées** microstructurales de l'échelle microscopique à l'échelle nanométrique c'est à dire aux échelles pertinentes pour l'analyse des défauts structuraux. Un tel microscope devra également jouer un rôle important dans la formation des étudiants à cette technique de pointe.

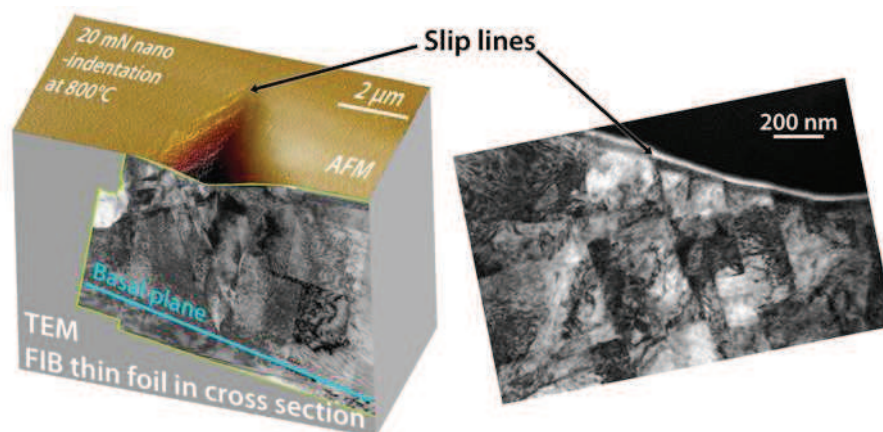
Les objets d'analyses visés sont entre autres :

- les défauts structuraux régissant les propriétés mécaniques en particulier **la déformation plastique** (dislocations et défauts d'empilement), analyse individuelle ou collective,

- les différentes phases en présence et leurs relations, ainsi que la structure des interfaces dans le cas de matériaux composites.

Ces analyses nécessitent un équipement bien adapté : une grande capacité à orienter l'échantillon selon des orientations différentes et des caractéristiques (caméra, source électronique, lentilles magnétiques) compatibles avec les techniques d'imagerie dédiées à l'analyse des défauts.

Le MET, en donnant accès aux microstructures en volume, viendra compléter les informations obtenues en surface par les équipements déjà acquis (ou en voie d'acquisition) : l'équipement Focused Ion Beam en juin 2016 (ERDF référence : P-2016-BAFE-94/95), le nano-indenteur haute-résolution et le microscope à force atomique (AFM)). En effet, le FIB permet, entre autres, l'élaboration d'échantillons (lames) MET spécifiquement dans la zone d'intérêt choisie *a priori*, par exemple dans des zones déformées par des tests nano-mécaniques. Il rend ainsi accessible comme objet d'étude des événements individuels et/ou contrôlés proches de ceux étudiés en simulation, et ce quel que soit le matériau. Cet ensemble d'équipement, (AFM, MET, FIB et nano-indenteur) permettra donc le couplage entre analyses en volume (MET) avec celles obtenues en surface (AFM) sur des mêmes objets déformés de façon contrôlée par nano-indentation. L'investissement MET demandé ici permettra donc de constituer un parc expérimental complet de techniques de pointe donnant une approche originale de problèmes fondamentaux des déformations mécaniques plastiques (plasticité), **en surface et en volume**. Par sa cohérence et sa complémentarité, ce parc expérimental confèrera au laboratoire un positionnement unique en France dans le domaine de l'analyse des défauts structuraux en lien avec leurs propriétés mécaniques.



*Plasticité de phase MAX analysée à l'échelle du grain : **couplage d'observations AFM en surface et MET en volume** de la microstructure de déformation induite par test nano-mécanique (nano-indentation). Les traces en surfaces observées par AFM peuvent être associées à des sous-joints observés en volume par MET.*

L'objectif de ce projet est de répondre à la problématique de l'allègement des structures dans le domaine du transport : c'est un défi industriel (réduction des coûts et de l'impact environnemental) et un défi en recherche (comprendre le couplage des différentes propriétés dans des matériaux complexes).

L'expertise de l'institut Pprime dans le domaine de la physique des matériaux, en particulier sur l'analyse fine des défauts de structure des matériaux et des propriétés qui en résultent à l'échelle macroscopique, est dans ce contexte un atout incontestable. Pour répondre aux problématiques actuelles, plusieurs voies sont possibles :

- ou bien s'orienter vers des matériaux, mono- ou poly-cristallins, alliant eux-mêmes des propriétés originales comme :
 - **les phases MAX**, matériau nano-lamellaire combinant des propriétés des métaux (conductivité électrique/thermique et la facilité à être usinées) et des céramiques (bonne résistance à l'endommagement et à l'oxydation)

- les alliages intermétalliques déjà bien reconnus pour leur intérêt dans le domaine de l'aéronautique
- ou bien s'orienter vers des matériaux **composites à matrice métallique** permettant de combiner des matériaux ayant des propriétés différentes afin que le composite final possède toutes les propriétés souhaitées. On peut ici citer :
 - les composites à matrice métallique Al/Al-Cu-Fe : matériaux recyclables pour l'industrie aéronautique alliant légèreté de l'aluminium aux propriétés mécaniques avantageusement compétitives des intermétalliques Al-Cu-Fe. Ces composites présentent également un faible coût d'élaboration.
 - les composites à matrice Cu renforcée par des particules ou fibres de carbone : matériaux composites pour le transport de l'énergie, plus léger et possédant des propriétés mécaniques, thermiques et électriques plus élevées que celles du métal seul.
 - les nano-composites Cu/Nb.

La compréhension et le contrôle des propriétés de ces matériaux complexes nécessite **une démarche multi-échelle** allant de l'analyse du défaut individuel à leur organisation collective, la répartition des phases, l'organisation des grains, jusqu'à des problèmes d'interface.

L'équipement en MET demandé ici permettra de répondre aux problématiques liées à ces différentes échelles par sa capacité à l'analyse **de l'échelle microscopique** (échelle de l'organisation collective des défauts, des différents grains cristallographiques) **à l'échelle nanométrique** (défaut individuel dans un grain individuel choisi au préalable) sur un même matériau.

Mécanismes collectifs : analyse microscopique

Une des étapes incontournables lors de l'élaboration de nouveaux matériaux est de connaître leur comportement global mécanique lors de déformations proches des conditions d'usage (compression, traction en environnement d'usage, température, pression). Les analyses microstructurales seront réalisées sur des lames MET prélevées dans des échantillons déformés macroscopiquement (les éprouvettes déformées sont micrométriques). Ces analyses fourniront des données statistiques, elles informeront sur les interactions entre les défauts, entre les phases. Elles permettront de comprendre quels sont les différents lieux de la déformation dans un matériau complexe. Ces analyses microstructurales permettront d'analyser le comportement mécanique, mais aussi électrique ou thermique si nécessaire, global du matériau. Cette échelle d'analyse sera développée aussi bien pour comprendre les mécanismes de déformation des composites où matrice et renforts jouent des rôles différents que ceux des phases MAX où par exemple les joints entre grains ont des rôles primordiaux dans la déformation du matériau.

Mécanismes élémentaires : analyse d'objets individuels

La maîtrise du comportement physique d'un matériau passe généralement par la bonne distinction et compréhension des phénomènes relevant des comportements collectifs dans des matériaux plus ou moins complexes de ceux dus à la structure même du matériau se déformant, ou transportant l'énergie etc. c'est à dire des mécanismes physiques élémentaires. Pour sonder ces derniers il est indispensable d'avoir accès à l'objet individuel. La démarche suivie associera, grâce au FIB, déformation contrôlée par test nano-mécanique d'un objet bien choisi (grain individuel ou micro-piliers), observation en surface par microscopie à balayage et/ou AFM et analyse en volume par MET des défauts associés à la déformation. Cette démarche permet de s'affranchir des mécanismes collectifs et de comprendre le lien entre mécanisme élémentaire et structure cristallographique et/ou propriétés chimiques. Elle sera appliquée au cas des phases MAX ou encore dans celui de la compréhension de la déformation des matrices Al ou Cu dans le cas des composites.

Analyse des interfaces

Les propriétés physiques des matériaux composites sont extrêmement dépendantes de la qualité des interfaces entre matrice renfort puisque ce sont les lieux des transferts thermiques, mécaniques ou électriques. La microscopie électronique en transmission permet d'analyser la structure cristallographique, la composition chimique de l'interface, le lien mécanique avec la matrice ainsi que

l'évolution microstructurale de la matrice due à la présence de cette interface : évolution structurale par génération de défauts accommodant les différences structurales entre renfort et matrice et/ou évolution chimique due à la diffusion atomique. Ainsi la présence ou non d'une interphase dans un composite à matrice cuivre renforcée par des renforts carbone a des conséquences drastiques sur les propriétés électriques et mécaniques. Il en est de même d'une éventuelle diffusion aux interfaces dans le cas des composites Al/Al-Cu-Fe. La microscopie électronique permettra aussi bien d'étudier statistiquement les interphases que les sonder individuellement par la démarche décrite ci-dessus.

Les étapes principales dans ce projet sont donc l'acquisition de :

- microscope électronique en transmission doté de pièce polaire permettant de larges tilts de l'échantillon c'est-à-dire adapté aux analyses de défauts microstructuraux,
- outils informatique : pilotage et traitement des données.

Nombre de chercheurs recrutés / affectés : 11

Coût total : 606 250 euros HT

Montant de l'aide européenne sollicitée : 283 333 euros, soit 46.74 % du coût du projet

Autre financement public sollicité sur l'opération : 322 917 euros (CPER part Région)

Financements privés : /

Autofinancement : /

Axe / objectif thématique / objectif spécifique mobilisé : principal : Axe 1 / OT 1 / PI 1a / OS 1a

Programme CPER : TRANSPORTS



Réunion de la Commission Recherche
Séance du 5 avril 2018

Dossier CPER / FEDER pour approbation de l'opération et du plan de financement
avant soumission au Comité régional de Programmation

<i>MICROBIOS 2 : Etude des microorganismes pathogènes dans l'eau</i>

Porteur : Yann HECHARD

Période prévisionnelle d'exécution : Du 01/05/2018 au 30/04/2021

Description de l'opération :

Contexte et présentation du projet de recherche

L'opération « **Microbios 2 – Etude des microorganismes pathogènes dans l'eau** » relève de l'axe 3 – thème 2 du projet CPER-FEDER Habisan.

L'axe 3 du projet Habisan intitulé « Santé humaine et environnement » est inclus dans le domaine **santé-environnement**. Ce domaine est un des domaines d'activités stratégiques (DAS) retenu par la Région. L'axe 3 a pour objectif global d'étudier l'impact de l'environnement sur la santé. Le domaine Santé-Environnement est bien identifié au niveau national (Plan National Santé Environnement) et est un domaine prioritaire pour la Région.

Opération Microbios 2 – Etude des microorganismes pathogènes dans l'eau

Cette opération Microbios 2 fait suite à l'opération Microbios-Quantification de microorganismes. La première opération avait pour objectif d'améliorer la quantification des microorganismes. L'opération Microbios 2 a pour objectif d'améliorer la compréhension des mécanismes de pathogénicité des microorganismes dans l'eau et de prévenir leur développement. Elle correspond à ce qui était prévu dans l'action 2, du thème 2 de l'axe 3 du projet Habisan.

L'objectif principal de cette étude est de limiter l'impact des microorganismes pathogènes de l'environnement sur la santé humaine et animale en 1) étudiant leur pathogénicité et 2) en prévenant leur développement et/ou leur transmission.

Le premier modèle d'étude concerne les amibes et les bactéries avec lesquelles elles interagissent dans l'environnement. En effet, dans l'eau il a été montré que la présence d'amibes, des protozoaires, pouvait contribuer au développement, à la transmission et à l'augmentation de la pathogénicité de bactéries.

En effet, les amibes sont retrouvées dans l'eau où elles se nourrissent de bactéries. Normalement, ces bactéries sont digérées mais il a été montré que certaines d'entre elles, comme *Legionella pneumophila* ou des mycobactéries, peuvent résister à cette digestion. Le problème est que ces bactéries résistantes à la digestion par les amibes sont souvent également résistantes à la digestion par

les cellules immunitaires (comme les macrophages) et sont donc pathogènes pour l'Homme et pour d'autres animaux comme le bétail. Les amibes sont des réservoirs pour ces bactéries pathogènes dans l'eau et elles sont également considérées comme des terrains d'entraînement de ces bactéries sélectionnant ainsi les plus pathogènes.

Action 1 Notre objectif est de pouvoir caractériser la présence d'amibes et de bactéries pathogènes dans l'environnement et mieux comprendre les mécanismes permettant aux bactéries de résister à la digestion par ces amibes, afin de mieux contrôler le développement de ces microorganismes.

Action 2 Nous recherchons également quel est l'impact de *Legionella pneumophila* sur ces amibes en étudiant la réponse de l'amibe à l'infection et le rôle de certaines protéines amibiennes.

Sur une thématique proche, un financement ANR Jeune Chercheur (Amocyst, Ascel Samba) vient d'être obtenu mais il concerne une autre partie de la biologie des amibes que sont les mécanismes d'enkystement.

Le second modèle d'étude concerne l'interaction de certains pathogènes avec la peau de l'Homme. Les kératinocytes sont les principales cellules constituant l'épiderme de la peau. La peau est la première barrière de protection de l'organisme ; elle est colonisée par de nombreux microorganismes potentiellement pathogènes retrouvés dans l'environnement. Les infections cutanées touchent une population large et leur expression est très variée.

Action 3 Nos projets ciblent l'étude des réactions immunitaires de la peau lors d'infections virales liées aux flavivirus qui sont inoculés directement dans la peau par un moustique vecteur et, dans un contexte de surinfection de plaie, de cicatrisation cutanée et de dermatite atopique, lors d'infections par les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* ou le virus de l'Herpès. Cette action s'intéressera aux interactions entre des microorganismes pathogènes et la peau afin de mieux comprendre la physiopathologie des infections cutanées et de mieux connaître les risques infectieux liés aux réservoirs environnementaux. Ce projet permettra d'identifier les facteurs de virulence bactériens impliqués dans l'exacerbation ou la chronicité des lésions cutanées et les complications herpétiques de la dermatite atopique.

Comme pour la première partie, un financement ANR Jeune Chercheur (S2ARA, Nicolas Levêque) vient d'être obtenu sur un sujet proche mais différent de notre projet. Ce financement concerne la caractérisation de protéines à activité antiviral produites par la peau lors de l'infection par les Flavivirus.

Les équipements nécessaires au déroulement de ce projet sont :

- Pour la culture des microorganismes : 1 Incubateur CO₂, 1 Incubateur réfrigéré, 1 congélateur -80°C, 3 Postes de sécurité microbiologique
- Pour la préparation des échantillons : 1 Cryobroyeur, 1 Robot pipetage et 1 Centrifugeuse grand volume
- Pour l'analyse de leur développement : 1 Lecteur Microplaque; 1 automate préparation ADN et 1 Imageur
-

Les objectifs du projet sont :

- Décrire la diversité des amibes et des bactéries pathogènes dans l'eau de l'environnement de l'Homme (eau potable notamment) et du bétail (eau d'abreuvement notamment)
- Mieux comprendre les mécanismes d'interactions entre amibes et bactéries (notamment pour *Legionella pneumophila* et des mycobactéries)
- Identifier les facteurs de virulence microbiens impliqués dans la physiopathologie des infections cutanées

Le but ultime étant de limiter l'impact de l'environnement sur la santé, en limitant le développement des microorganismes pathogènes dans l'environnement et ainsi leur transfert vers l'Homme ou le bétail.

Les résultats escomptés sont :

- Mieux comprendre la dynamique de développement des microorganismes pathogènes trouvés dans l'eau en lien avec les amibes
- Mieux comprendre l'interaction entre certains microorganismes
- Mieux comprendre la pathogénicité microbienne
- Proposer des solutions pour limiter le transfert de ces microorganismes vers leur hôte

Des articles de recherche en lien avec cette opération seront publiés dans des journaux scientifiques internationaux de haut niveau.

Les cibles visées sont les chercheurs académiques et les étudiants, les petites et moyennes entreprises régionales (partenariats) et enfin les élèves et le grand public (visite de laboratoire).

Le projet permet une structuration des moyens d'analyses de microorganismes pour faciliter l'accès à ces moyens et leur mise en œuvre. Il permettra en outre d'apporter une meilleure visibilité de la structure vers la communauté scientifique de la région et vers le grand public.

Au niveau régional, le développement du plateau Microbios permettra à tous les chercheurs et aux étudiants formés par la recherche (Master et doctorants) d'avoir accès sur un même site à tous les équipements de pointes pour l'analyse des microorganismes. Cet outil permettra sans doute de favoriser la recherche dans ce domaine et la rendre plus visible. Le plateau sera ouvert aux équipes de Poitiers et de la Région.

Au niveau international, la structure, via l'équipe Microbiologie de l'Eau est très visible dans le domaine des interactions amibes-bactéries pathogènes dans l'eau et des traitements antimicrobiens. Le projet présenté doit permettre de maintenir et renforcer ce domaine d'excellence. Il pourra également être un point attractif pour l'accueil de chercheurs étrangers travaillant dans le domaine.

Nos équipes développent déjà de nombreux partenariats avec des entreprises régionales et nationales (Bioalternatives, Eau de Paris, EDF, Eurofins-CEREP, Thermes de La Roche Posay). La mise en place de Microbios doit permettre de favoriser ces interactions et de pouvoir mieux répondre aux demandes de nos partenaires.

Le grand public et les élèves seront également sensibilisés à la présence de ce matériel de pointe par la visite du laboratoire et par le partenariat avec l'Espace Mendès France et l'Ecole de l'ADN.

Principales actions présentées

- Description des amibes et bactéries dans l'eau
- Etude des interactions entre amibes et certaines bactéries sélectionnées
- Identifier les facteurs de virulence microbiens impliqués dans la physiopathologie des infections cutanées
- Rédaction du rapport final

Nombre de chercheurs recrutés / affectés : 4

Coût total : 262 550 euros HT

Montant de l'aide européenne sollicitée : 157 530 euros, soit 60 % du coût du projet

Autre financement public sollicité sur l'opération : 105 020 euros (CPER part Région)

Financements privés : /

Autofinancement : /

Axe / objectif thématique / objectif spécifique mobilisé : principal : Axe 1 / OT 1 / PI 1a / OS 1a

Programme CPER : HABISAN



Réunion de la Commission Recherche
Séance du 5 avril 2018

Dossier CPER / FEDER pour approbation de l'opération et du plan de financement
avant soumission au Comité régional de Programmation

<i>MRVI : Microscopie haute Résolution pour le Vt vant</i>

Porteur : Anne CANTEREAU et Afsaneh GAILLARD

Période prévisionnelle d'exécution : Du 01/09/2018 au 31/12/2020

Description de l'opération :

Introduction :

Le projet présenté ici consiste à développer des études visant à comprendre le fonctionnement et le développement des cellules dans un contexte scientifique de réparation tissulaire par apport de cellules non lésées (greffes, thérapie cellulaire...). Sa réalisation nécessite l'acquisition de deux stations d'imagerie dont les niveaux de **résolution** seront complémentaires : un microscope à feuillet de lumière afin d'imager les cellules au sein de l'organe entier et un microscope confocal haute résolution pour accéder à l'organisation précise cellulaire et subcellulaire des acteurs moléculaires impliqués dans l'interaction des cellules avec leur environnement.

Objets du projet scientifique et contexte de la demande

La quête du fonctionnement cellulaire dans l'environnement tissulaire est essentielle pour comprendre réellement la physiologie des cellules, les interactions entre elles, le développement des tissus, leur organisation, la progression des greffes cellulaires aussi bien expérimentales que thérapeutiques.

Notre projet d'équipement de plateforme associe 3 laboratoires (LNEC INSERM 1084, STIM CNRS ERL 7368, INSERM IRTOMIT 1082) et comprend 5 aspects qui visent tous à comprendre comment les cellules sont capables de régénérer le tissu malade en s'intégrant en 3 dimensions à ce dernier.

Au-delà des questions scientifiques actuellement recensées dans cette opération (Aspects 1 à 6 ci-dessous) nous verrons aussi (point 7 ci-dessous) que les dispositifs d'imagerie que nous proposons d'acquérir seront mis à la disposition de l'ensemble de la communauté scientifique régionale aussi bien académique que privée. Ainsi cet investissement matériel sera scientifiquement rentabilisé au mieux et favorisera le développement économique régional.

La tarification envisagée de l'utilisation de la station ne permettra pas de générer des recettes nettes lors cette opération, seuls les coûts de fonctionnement et d'exploitation de celle-ci seront estimés et pris en charge. Il s'agit bien par cette démarche de tout mettre en œuvre pour que rapidement un maximum d'utilisateurs s'approprie les outils afin de pérenniser leur utilisation à long terme.

Contenu du projet scientifique

1. Imagerie du cerveau de souris (Laboratoire LNEC, équipe 1 – Afsaneh Gaillard)

Notre objectif est en premier lieu d'étudier les interactions cellulaires qui gouvernent l'évolution d'une maladie pour ensuite optimiser les tests d'efficacité de nouveaux traitements. L'objectif de ce

travail est de visualiser les structures internes du cerveau au cours du temps, dans les conditions physiologiques et pathologiques.

L'étude de la dynamique des interactions cellulaires en conditions pathologiques permettra d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques ou de caractériser les éventuels effets secondaires de traitements pharmacologiques. Des études ont montré que de nombreux types cellulaires interagissent de façon séquentielle ou concomitante dans le cerveau malade (macrophages, fibroblastes, lymphocytes, péricytes, cellules endothéliales...) et contrôlent de façon synergique l'évolution des pathologies. Cependant, ni les dynamiques de ces interactions ni leurs conséquences directes ou indirectes sur la progression de la pathologie n'ont été caractérisées faute de méthodes pour visualiser ces interactions dans l'organe entier.

La microscopie à feuillet de lumière, particulièrement adaptée pour l'imagerie en profondeur d'échantillons, fait aujourd'hui l'objet d'un intérêt majeur car elle représente une solution originale parmi l'ensemble des techniques d'imagerie existantes, permettant de décrire l'organisation normale et pathologique du cerveau de souris. La microscopie confocale super-résolution sera appliquée en seconde instance pour localiser sur les coupes de tissu issues de ces organes, les protéines d'intérêt avec une précision inférieure à 200nm.

2. Altérations de la signalisation cellulaire dans les troubles du spectre autistique et la maladie de Parkinson (Laboratoire LNEC, équipe 3, Pierre-olivier Fernagut - Mohamed Jaber)

Les pathologies neurodéveloppementales telles que les troubles du spectre autistique et les pathologies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson sont associées à de nombreux phénomènes neuroadaptatifs dans divers ensembles neuronaux. Ces neuroadaptations se manifestent notamment par : 1) des modifications de l'expression et de l'adressage membranaire de récepteurs. 2) des altérations de l'activité de voies de signalisation intracellulaire. Par ailleurs, dans la maladie de Parkinson, le processus dégénératif est associé à une rupture de l'homéostasie protéique caractérisée par l'agrégation intracytoplasmique d'alpha-synucléine et d'autres protéines.

L'étude de ces processus neuroadaptatifs fait appel à des marquages par immunofluorescence qui sont ensuite analysés quantitativement suite à l'acquisition d'image par microscopie confocale. L'imagerie à haute résolution proposée dans ce projet sera un atout pour effectuer des mesures de distribution de récepteurs dans certains compartiments cellulaires ainsi que pour l'analyse des agrégats protéiques.

Dans le cadre de ses projets évalués favorablement par l'HCERES, l'équipe sera amenée à utiliser les systèmes d'imagerie optique pour les applications suivantes :

- Co-localisation de marquages membranaires, cytoplasmiques ou nucléaires dans différentes populations neuronales (cellules de Purkinje, neurones dopaminergiques, neurones corticaux, neurones et interneurones striataux).
- Etude de la distribution cellulaire de protéines d'intérêts (récepteurs et transporteurs transmembranaires, facteurs de transcription, enzymes et voies de signalisation intracellulaires).
- Acquisition de signal dans le but de quantifier l'intensité de fluorescence.

3. Etude des mécanismes de régulation des cellules souches neurales et des gliomes (Laboratoire STIM –Equipe 4CS – Bruno Constantin, DR CNRS, Laboratoire STIM)

Outre l'enjeu sociétal évident, l'étude des cellules souches et des cellules cancéreuses fournit aux fondamentalistes des modèles biologiques de choix pour explorer des fonctions essentielles comme la division et la prolifération cellulaire, l'auto-renouvellement d'une population cellulaire, la migration cellulaire et l'invasion, l'implantation cellulaire dans un tissu, l'apoptose et la survie cellulaire, ou encore la communication cellulaire avec le microenvironnement. Dans ce contexte l'équipe « Canaux et Connexines dans les Cancers et les Cellules Souches » étudie la régulation par les transporteurs ioniques membranaires de ces fonctions fondamentales des cellules souches normales et cancéreuses et des cellules cancéreuses invasives. Les transporteurs ioniques de la biomembrane se trouvent comme les récepteurs à l'interface du milieu intracellulaire et extracellulaire, et ils participent de façon importante à la transmission et à l'intégration de signaux extracellulaires qui proviennent par exemple de la niche des cellules souches où elles s'auto-renouvellent ou du microenvironnement tumoral et du stroma où les cellules cancéreuses s'implantent. Du fait de leur présence à la membrane cellulaire, ces protéines spécialisées se présentent donc comme des cibles pour réguler l'activité des

cellules normales ou cancéreuses et donc peuvent être utilisés comme thérapeutiques et/ou des marqueurs pronostiques dans le cancer.

L'étude de ces protéines membranaires spécialisées ainsi que de l'activité cellulaire des cellules souches normales et cancéreuses et des cellules tumorales invasives nécessitent de mener des études en microscopie de fluorescence pour lesquelles nous avons besoin d'utiliser la microscopie de confocale. L'option super-résolution pour analyser et recueillir les résultats représente un apport technologique essentiel.

En outre, dans nos travaux nous réalisons des analyses in situ (cerveau, peau, os, etc...) des effets que nous observons in vitro. Compte tenu de la complexité des tissus, nous aurons besoin, pour disposer d'une visualisation tridimensionnelle complète, de suivre les cellules in situ dans leur microenvironnement. Ceci nous permettra d'explorer des fonctions assurées par des protéines de signalisation spécialisées sur des organes rendus transparents dans des cas physiologiques ou physiopathologiques. La microscopie de fluorescence à feuillet de lumière est l'outil requis pour effectuer ce suivi. La microscopie de fluorescence à feuillet de lumière nous permettra également d'effectuer le suivi de cellules cancéreuses greffées au sein des tissus étudiés, et d'évaluer les effets des traitements anticancéreux ciblant notamment le blocage de l'invasion d'autres tissus par métastase. Les cellules ainsi repérées pourront être analysées dans un second temps avec une grande précision en microscopie confocale haute résolution.

4. Réparation musculaire par les cellules souches (Laboratoire STIM – Aurélien Chatelier – Stéphane Sebille)

La thérapie cellulaire est une approche prometteuse pour stimuler et améliorer la capacité régénératrice d'un tissu musculaire strié endommagé ou malade. Dans le muscle squelettique, l'usage thérapeutique des cellules souches représente un formidable espoir pour les stratégies de remplacement cellulaire. Pourtant, les applications cliniques de ces approches restent limitées en raison de difficultés liées à la survie, la prolifération et la différenciation des cellules implantées dans le tissu malade. Il apparaît donc nécessaire d'améliorer notre connaissance et notre contrôle du comportement cellulaire dans un tel contexte de reconstruction tissulaire.

A cette fin, ce projet vise à étudier et moduler l'activité et la différenciation des cellules souches musculaires par les outils optogénétiques. Cette technique permet, grâce à des flashs lumineux de stimuler ou d'inhiber l'activité électrique cellulaire et également de mesurer cette activité via des protéines fluorescentes senseurs de calcium (GCaMPs). Ce projet consiste à suivre et contrôler l'activité, la différenciation et la fonctionnalité des cellules souches musculaires à deux niveaux organisationnels :

- i. in vitro, afin d'étudier la physiologie et les différentes structures de ces cellules au cours de leur différenciation grâce à des techniques d'imagerie confocale sur cellules vivantes et fixées.
- ii. In situ, afin de suivre l'intégration et l'activité de ces cellules dans les organes lors de la réparation tissulaire. Cette partie ne peut être possible que grâce à l'utilisation d'un microscope à feuillet de lumière, seul à même de fournir des images suffisamment résolues de cellules profondément ancrées dans un tissu. Cette approche apportera des informations capitales sur le comportement de ces cellules in situ et leurs interactions avec les cellules environnantes.

5. Rôle de l'angiogenèse dans la réparation de la microcirculation rénale post ischémie et interaction des progéniteurs endothéliaux avec l'endothélium lésé (IRTOMIT – Sébastien Giraud)

La séquence d'ischémie re-perfusion rencontrée lors de greffe d'organe induit de nombreux processus délétères pour la survie du greffon qui lèsent notamment le réseau vasculaire et activent l'endothélium, conduisant l'activation du processus inflammatoire et de la coagulation. Il a été établi que la restauration rapide de la vascularisation de l'organe était en lien avec une diminution des lésions chroniques des greffons. Il paraît alors important d'étudier et de stimuler les processus visant à restaurer la re-perfusion sanguine précoce et ainsi de stimuler la réparation de l'arbre vasculaire en activant le processus d'angiogenèse. Ce processus fait appel aux cellules endothéliales mais également aux cellules de soutien comme les péricytes et les cellules musculaires lisses capables de sécréter des facteurs de croissance ou de se différencier. Dans le cadre de l'étude de l'angiogenèse post ischémique, la microscopie à feuillet de lumière est un outil indispensable pour visualiser les

interactions qui existent entre ces cellules à court terme lors de la re-perfusion et de donner l'évolution du réseau microvasculaire rénal en lien avec une néovascularisation.

Au sein de l'unité, nous travaillons sur des stratégies thérapeutiques qui visent à étudier le rôle de cellules souches mésenchymateuses ou de progéniteurs endothéliaux dans le traitement des lésions endothéliales post ischémie re-perfusion. Les travaux préliminaires, avec les outils à notre disposition, semblent démontrer une présence furtive de ces cellules lors d'une injection unique avec une présence limitée à 24h au sein de l'organe. La microscopie optique à l'échelle tissulaire et subcellulaire est essentielle pour confirmer cette hypothèse et surtout préciser les interactions de ces cellules avec les cellules résidentes afin de comprendre comment ces cellules, présentes quelques jours après leur injection, maintiennent leurs effets thérapeutiques pendant 2 à 3 mois.

6. Génération d'organoïdes rénaux à partir de cellules souches urinaires : vers de nouvelles stratégies de recherche et investigations thérapeutiques (IRTOMIT – Clara Steichen / Thierry Hauet)

L'étude des mécanismes physiopathologiques des dysfonctions rénales et le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques dans ce contexte nécessitent l'accès à des modèles rénaux qui récapitulent au mieux les conditions retrouvées en clinique. Les modèles in vitro de culture cellulaire de cellules rénales sont faciles d'utilisation mais trop simplistes car loin de mimer la complexité structurale d'un rein. Les modèles animaux sont quand à eux plus complets et prédictifs et permettent des analyses systémiques mais leur utilisation pose de nombreux problèmes éthiques. L'objectif de ce projet est d'offrir un modèle unique d'étude du rein en générant des organoïdes rénaux à partir de cellules souches pluripotentes induites (iPSCs pour induced Pluripotent Stem Cells) d'origine urinaire. Premièrement, nous proposons d'isoler des cellules à partir d'urine, puis de les reprogrammer artificiellement en iPSCs. Cette stratégie a l'avantage d'être efficace et non invasive. Le deuxième objectif du projet consiste à adapter au laboratoire un protocole efficace et reproductible de différenciation d'iPSCs en organoïdes rénaux. Les organoïdes rénaux sont des mini-structures sphériques d'environ un demi-centimètre de diamètre, en trois dimensions, vascularisées, dans lesquelles sont assemblées diverses structures rénales comme les glomérules, les tubules proximaux et distaux et les tubes collecteurs. Enfin, dans la troisième et dernière partie du projet, nous validerons la fonctionnalité de ces organoïdes en étudiant leur sensibilité à différents tests tels que l'ajout d'une molécule néphrotoxique ou en les soumettant à des séquences d'hypoxie réoxygénation. Dans ce contexte, une étape importante de la caractérisation de ces organoïdes avant de les utiliser comme modèle consiste à vérifier leur contenu (et notamment la présence de divers types cellulaires rénaux et l'organisation de ces cellules entre elles). Le microscope à feuillet de lumière nous permettrait d'imager les organoïdes obtenus, en s'affranchissant des difficultés techniques liées à la visualisation d'une structure complexe en microscopie classique ou confocale.

7. Mise à disposition du dispositif expérimental pour d'autres projets

Afin de rentabiliser scientifiquement au mieux le dispositif acquis dans le cadre de ce projet, ce dispositif sera mis à disposition d'autres projets d'HaBiSan (soutien technologique au projet global HaBiSan) et de la communauté scientifique académique ou privée à travers la plateforme technologique ImageUP. L'acquisition de ce dispositif d'imagerie de l'organe à la molécule rend possible le développement de tels projets sur le site de l'Université de Poitiers qui sera en mesure de proposer une solution complète d'imagerie, de la résolution nanométrique en 3D (MEB 3D – 1ère tranche du CPER/FEDER) à l'imagerie du petit animal (Xème CPER-FEDER).

Tous les laboratoires de Biologie Santé de l'Université et du CHU, déjà utilisateurs de la microscopie optique avancée sont concernés par l'acquisition de ce continuum d'imagerie. Cela représente une cinquantaine d'utilisateurs, chercheurs, enseignants-chercheurs et doctorants issus de ces laboratoires. Ainsi, en plus des laboratoires intervenant dans les projets cités ci-dessus, le laboratoire LITEC, Inflammation, tissus épithéliaux et cytokines, le laboratoire EBI, Ecologie et biologie des interactions, le laboratoire IC2MP, Institut de chimie des milieux et des matériaux de Poitiers (IC2MP), le Laboratoire Cibles Moléculaires et Thérapeutique de la Maladie d'Alzheimer -, le Laboratoire Pharmacologie des anti-infectieux bénéficieront pour leurs recherches de ce programme d'investissement.

Objets de la demande

- La présente demande se focalise sur l'acquisition de deux systèmes de microscopie optique de dernière génération d'utilisation complémentaire : un macroscope à feuillet de lumière permettant d'imager des organes isolés entiers et un microscope confocal super-résolution permettant d'atteindre une résolution <200nm pour une imagerie à l'échelle sub-cellulaire.

Cette solution complète d'imagerie permettra de suivre le fonctionnement et le devenir des cellules en 3D au sein même de l'organe, puis d'affiner l'analyse sur des coupes ainsi que des cultures cellulaires.

-Caractéristiques techniques de cette solution complète d'imagerie photonique

Les découvertes scientifiques s'appuient souvent sur l'apparition de nouvelles technologies, cela a été particulièrement fort avec l'apparition de la microscopie confocale dans les années 2000, car cette microscopie permet d'imager des échantillons épais et en 3D. Mais cette technologie est limitée dans l'observation des échantillons épais (100µm) et dans sa résolution (200nm).

Les développements récents en microscopie optique permettent d'élargir le champ d'application de la microscopie optique. D'une part, il est possible d'atteindre des résolutions très inférieures à 200nm, limite longtemps considérée comme infranchissable en raison de la diffraction de la lumière. D'autre part, il est possible de visualiser les cellules dans leur environnement tissulaire grâce à des techniques de transparençation des organes et l'application d'un éclairage en feuille de lumière par l'utilisation d'optiques cylindriques.

Le projet s'appuie donc sur l'acquisition de deux dispositifs d'imagerie très complémentaires. Un microscope confocal nouvelle génération équipé d'un dispositif de super-résolution et un microscope à feuillet de lumière pour visualiser les cellules situées dans les couches profondes d'un tissu ou d'un organe.

Ces deux systèmes de microscopie de nouvelle génération bénéficient des développements technologiques récents tels que les détecteurs GasP très sensibles, la super-résolution, les optiques longues distances développées pour travailler dans la profondeur des tissus.

Plusieurs équipes ont d'ores et déjà suivi une formation à l'utilisation de ces nouvelles technologies (Institut de la Vision, formation super-résolution), elles ont pu évaluer leur adéquation avec leurs programmes de recherche. Elles ont déjà appréhendé les développements techniques de transparençation des échantillons et sont prêtes pour mettre en application ces nouvelles approches.

Conclusions et enjeux

Le présent projet répond à plusieurs enjeux :

- Un **enjeu scientifique** qui est de visualiser et comprendre le développement des cellules dans leur contexte physiologique et en 3 dimensions (3D) afin d'avancer vers la réparation tissulaire par greffes cellulaires ou remplacement par des cellules souches.
- Un **enjeu de mutualisation** du matériel en mettant l'appareillage à la disposition des projets du programme HaBiSan et plus généralement à l'ensemble de la communauté scientifique
- Un **enjeu économique**, d'un part car les investissements seront ouverts, à travers la plateforme ImageUP à tous les laboratoires académiques et privés, favorisant ainsi le développement des entreprises de bio-santé, d'autre part car les projets concernent des questions majeures de santé publique autour des maladies dégénératives, de la réparation tissulaire et du cancer.

Nombre de chercheurs recrutés / affectés : 27

Coût total : 851 000 euros HT

Montant de l'aide européenne sollicitée : 510 600 euros, soit 60% du coût du projet

Autre financement public sollicité sur l'opération : 340 400 euros (CPER part Région)

Financements privés : /

Autofinancement : /

Axe / objectif thématique / objectif spécifique mobilisé : principal : Axe 1 / OT 1 / PI 1a / OS 1a

Programme CPER : HABISAN



Réunion de la Commission Recherche
Séance du 5 avril 2018

Dossier CPER / FEDER pour approbation de l'opération et du plan de financement
avant soumission au Comité régional de Programmation

SURIKAT : Stem cells from URIne for Kidney Transplantation
Potentiel des cellules souches d'origine urinaire pour limiter les lésions d'ischémie reperfusion en transplantation rénale : tests in vitro, ex vivo pour le reconditionnement d'organe et in vivo dans un modèle porcin d'auto-transplantation rénale

Porteur : Thierry HAUET

Période prévisionnelle d'exécution : Du 01/07/2017 au 31/12/2021

Description de l'opération :

Présentation générale de la structure

Le projet proposé mobilise 2 structures de recherches ainsi qu'un réseau régional :

- **Unité Inserm U1082 IRTOMIT** « Ischémie Reperfusion en Transplantation d'Organes, Mécanismes et Innovations Thérapeutiques », Poitiers, France : Dir : Pr. T. HAUET l'unité IRTOMIT est reconnue internationalement et s'intéresse à la transplantation d'organe et plus particulièrement aux mécanismes induits par la transplantation qui peuvent aboutir à un échec de la greffe, et ce afin de développer des stratégies thérapeutiques.
- **Plateforme MOPICT**, « MOdélisation Préclinique Innovations Chirurgicales et Technologiques », Surgères, France : Dir. Scientifique Prof. C. JAYLE la plate-forme MOPICT est spécialisée dans le domaine de la chirurgie expérimentale et met à disposition des utilisateurs l'ensemble de l'infrastructure permettant de réaliser des interventions dans des conditions retrouvées dans les blocs opératoires hospitaliers, notamment par une expérience forte sur le porc.
- **Fédération Hospitalo-Universitaire « SUPORT »** (SURvival oPTimization in ORgan Transplantation), Limoges, Poitiers, Tours, France, Coordination Pr. P. MARQUET (Limoges), Pr. T. HAUET (Poitiers), et Pr. E. SALAME (Tours). Ce projet a un fort potentiel fédérateur dans le cadre de la Fédération Hospitalo-Universitaire « SUPORT » qui regroupe, autour de la transplantation d'organe, les unités de recherche, d'enseignement supérieur et les services cliniques des centres hospitaliers de Poitiers et Limoges avec un fort potentiel de constitution d'un réseau en association avec les autres unités de recherche et service de la Région Nouvelle Aquitaine (Néphrologie et Transplantation du CHU de Bordeaux).

Contexte et présentation du projet de recherche

La transplantation est la thérapie de choix pour les insuffisances d'organes au stade terminal. Or, que ce soit pour le rein ou d'autres organes, cette stratégie pourtant efficace est confrontée à une pénurie de greffons et de nombreux patients meurent sur liste d'attente. Pour pallier à cette pénurie, il peut être envisagé d'utiliser des greffons provenant de donneurs dits « limites » c'est à dire dont l'état de conservation de l'organe n'est pas optimal. Cependant, lorsque ces greffons limites sont utilisés, ils

sont particulièrement sensibles au processus d'ischémie/reperfusion qui accompagne la transplantation. En effet, le prélèvement du greffon chez le donneur et sa conservation *ex vivo* correspondent à la période d'ischémie et la revascularisation du greffon chez le receveur correspond à la phase de reperfusion. L'étude des mécanismes physiopathologiques induits par cette séquence et les innovations thérapeutiques qui peuvent en découler constituent un des axes de recherche de la thématique de l'unité U1082 IRTOMIT. En parallèle à d'autres travaux réalisés par des équipes étrangères, cette unité a montré que l'ischémie reperfusion par elle-même était responsable en partie des lésions retrouvées au sein du greffon rénal à court et long terme après la greffe. Devant l'extension de l'âge des donneurs et l'utilisation de donneurs dits « à critères étendus » ou de donneurs « décédés après arrêt circulatoire irréversible », les greffons présentent, avant même leur prélèvement, de nombreuses lésions préexistantes et sont beaucoup plus sensibles aux nouvelles lésions induites par l'ischémie reperfusion qui contribuent à la dysfonction ou à la non fonction des greffons. Ainsi, il est indispensable de promouvoir la régénération post greffe des organes transplantés dans ces conditions afin de favoriser l'augmentation du nombre de greffes fonctionnelles à long terme. La thérapie cellulaire est une des potentielles stratégies pour améliorer la transplantation des greffons « limites », et il a été observé notamment au laboratoire que l'injection de cellules souches (isolées à partir de liquide amniotique) quelques jours après la transplantation permet d'améliorer la reprise de fonction de greffon rénal dans un modèle porcin. Cependant, cette source de cellules (liquide amniotique) n'est pas idéale puisque difficile d'accès.

○ Cellules souches de type ECFCs et UPCs

Ce projet propose d'utiliser 2 types de cellules souches, les ECFCs (endothelial-colony forming cells), cellules que l'on retrouve, en faible quantité, dans le sang périphérique et les UPCs (urine progenitor cells) isolées à partir d'échantillons d'urine. Ces 2 types cellulaires ont l'avantage de pouvoir être isolées chez l'adulte par un prélèvement pas ou peu invasif et présentent de nombreux points communs : caractéristiques de cellules souches c'est à dire une grande capacité de prolifération mais aussi de multipotence, potentielle présence chez l'adulte mais en faible nombre et techniques d'isolement et de culture. Les ECFCs ont déjà été étudiées dans de nombreux modèles notamment de complications liés à la transplantation grâce à **leur particularité de pouvoir s'incorporer dans le réseau vasculaire et de participer au processus de réparation vasculaire par 3 mécanismes distincts : vasculogénèse (formation de novo de vaisseaux sanguins), angiogénèse (recrutement de vaisseaux sanguins préexistants) et artériogénèse (recrutement d'artères pré-existantes)**. Ainsi, leur potentiel thérapeutique a déjà été démontré à de nombreuses reprises dans des modèles d'ischémie de l'artère fémorale de la patte chez la souris, de rétinopathies ischémiques, d'accident vasculaire cérébral, d'infarctus du myocarde et de sténose de l'artère rénale. Bien moins étudié, le potentiel des UPCs n'est décrit que dans quelques articles récents et montrent tous des effets bénéfiques intéressants, mais aucun dans un contexte de transplantation d'organe ou d'ischémie reperfusion. Cependant, elles possèdent des caractéristiques relativement proches des cellules souches mésenchymateuses (MSCs pour Mesenchymal Stem Cells) et des ECFCs: capacité de prolifération élevée et clonale, profil pro-angiogénique et propriété immunomodulatrices. Tout comme les MSCs, les UPCs sont multipotentes *in vitro* puisqu'elles peuvent être différenciées en chondrocytes, ostéocytes et adipocytes. Cependant, la capacité de différenciation dans d'autres types cellulaires a été démontrée, comme en cellules uroépithéliales, endothéliales ou encore musculaires lisses. Enfin, les UPCs peuvent également être différenciées en cellules du rein, comme des podocytes ou des cellules du tubule proximal. Ces données soulignent la capacité des UPCs à se différencier vers les principaux types cellulaires rénaux. C'est pourquoi elles sont aussi nommées RPC pour Renal Progenitor Cells dans certains articles. Leur grand avantage est que ce sont des cellules dont l'obtention ne nécessite aucun processus invasif, mais plutôt l'utilisation d'un produit naturel du renouvellement cellulaire du corps humain, l'urine. Ces deux caractéristiques suffisent à qualifier les cellules UPC d'excellentes candidates pour des approches de thérapie cellulaire du rein.

○ Conditionnement ex vivo des greffons rénaux

Une stratégie déjà utilisée en clinique consiste à optimiser la phase de conservation de l'organe en plaçant les reins en conservation dynamique sur des machines de perfusion qui, grâce au passage d'un flux à travers l'organe, permettent la pénétration d'une solution de conservation, l'apport en oxygène et nutriments et l'élimination de métabolites toxiques. De façon importante, l'utilisation de machine de perfusion permet également le monitoring en temps réel des performances biochimiques et fonctionnelles du greffon avant transplantation, représentant ainsi un outil majeur pour la sélection des greffons mais aussi permettant leur conditionnement pré-transplantation.

- **Investissement prévu et justification**

- **Cytomètre C6 BD Accuri :**

Le cytomètre C6 est un cytomètre puissant mais particulièrement simple d'installation et de maintenance. Son utilisation est simplifiée par rapport à un cytomètre classique (d'où son appellation de cytomètre de paillasse), ce qui permet de réaliser des analyses par cytométrie en flux plus souvent, rapidement et surtout de façon plus flexible. Cet appareil permettrait d'analyser rapidement des paramètres tels que le cycle cellulaire, apoptose, prolifération, viabilité, et ce sur nos cellules vivantes directement soumises à des protocoles d'hypoxie-réoxygénation (WP2). De plus, il facilitera grandement les expériences du WP1 qui comporte une phase importante de caractérisation des cellules ECFCs et UPCs isolées.

- **Analyseur métabolique :**

Cet appareil permet d'étudier le métabolisme de cellules en culture, en permettant des analyses bioénergétiques cellulaires simultanément sur les deux principales voies de production d'énergie : la respiration mitochondriale et la glycolyse sur cellules vivantes, en temps réel et sur microplaque. Ces paramètres sont impliqués dans de nombreuses fonctions cellulaires comme la survie, la prolifération, la différenciation, l'activation, la toxicité, la biosynthèse etc. Dans le contexte de l'ischémie reperfusion, la production de ROS et les Switch métaboliques sont aussi responsables d'une partie des lésions observées. Cet appareil permettrait d'analyser ces réponses en offrant une nouvelle dimension à nos axes de recherche.

De plus, cet appareil serait également d'une utilité directe pour un autre projet de l'unité U1082 visant à déterminer les liens entre immunité innée et ischémie reperfusion en s'intéressant aux cellules T CD8⁺ innées et à leur signature métabolique comparativement à des cellules T CD8⁺ conventionnels et/ou à des cellules NK.

- **Incubateur :**

Il s'agit d'un équipement permettant le maintien des cellules dans une chambre à environnement contrôlé permettant l'acquisition d'images en temps réel grâce à son couplage à un microscope de type EVOS (Life Technologies, acheté au laboratoire sur d'autres fonds). Ce mini incubateur permet le contrôle de la température, de l'humidité et des concentrations en gaz, permettant aussi de réaliser des acquisitions d'image dans des conditions d'hypoxie.

- **Banc de perfusion :**

Le laboratoire dispose déjà d'un banc de perfusion utilisé notamment pour un projet européen dans lequel il est engagé, COPE. Nous souhaitons doubler ce banc de perfusion en créant un second banc de perfusion similaire. Ce banc doublé offrira de nombreux avantages. Premièrement, d'un point de vue éthique et principe des 3R, il nous permettra de prendre en charge simultanément les 2 reins issus des porcs dédiés à ces études, chose impossible à l'heure actuelle. L'analyse simultanée de 2 reins sur banc de perfusion permettra également de se placer dans des conditions optimales pour comparer efficacement deux protocoles. Enfin, ce banc doublé permettra d'augmenter de façon significative l'activité autour de cet axe de recherche au laboratoire, en particulier dans l'optique de tester le

conditionnement ex vivo de greffon par l'utilisation de cellules souches (WP3), axe particulièrement novateur du laboratoire.

- **Prototype (démonstrateur) :**

Il s'agit ici de réaliser un prototype « home-made » d'un banc polyvalent d'évaluation multiparamétrique d'organe, adapté au rein dans un premier temps, mais potentiellement applicable à d'autres organes à moyen terme (foie en premier lieu). Le principe est de fabriquer de toutes pièces (ab initio) un banc de perfusion et d'évaluation, où le contrôle en ligne de nombreux paramètres et des conditions associées est possible, à savoir la température, la concentration en oxygène, le régime de perfusion (pulsé versus continu), la pression, les métabolites énergétiques, le milieu de perfusion (solution artificielle, sang total, sang dilué), l'ajout de cellules etc. Nous souhaitons, par le développement de ce prototype, apporter la preuve de concept de la faisabilité, versatilité et utilité d'un banc d'évaluation, de reconditionnement et de réparation d'organe, dans le contexte de la transplantation. A moyen terme, le développement d'un tel prototype servira de démonstrateur, nécessaire à la création d'une Start-Up (et à la mise en production, après raffinements) d'une part, puis d'un « hub », ie. un « laboratoire de perfusion », vers lequel les organes seront aiguillés pour y être évalués et reconditionnés, avant d'être redirigés vers le receveur le plus adapté, selon les résultats obtenus et le reconditionnement effectué ex vivo.

- **Armoire -80°C et cryoconservateur :**

Ce projet ambitieux et innovant nécessite le stockage d'un grand nombre d'échantillons pour analyse (-80°C) ainsi que celui de cellules (vapeur d'azote). Actuellement les ressources de stockage de l'Inserm U1082 sont à saturation, ce qui pose des problèmes pour conserver les échantillons de ce projet et implique l'acquisition de ces équipements. L'acquisition de ces appareils permettra également d'intégrer les aspects de sécurité compte tenu des systèmes de maintien de la température en cas de coupure électrique (le cryoconservateur permet de maintenir les échantillons 40 jours sans risque de détérioration en cas de panne).

o **Recrutement prévu et justification**

Nous sollicitons le recrutement d'un IGE (1 ETP) pour la période de 3 ans qui sera responsable de la planification et la réalisation des expériences, ainsi que de l'analyse et l'interprétation des données.

Nombre de chercheurs recrutés / affectés : 5

Coût total : 320 050 euros HT

Montant de l'aide européenne sollicitée : 192 030 euros, soit 60% du coût du projet

Autre financement public sollicité sur l'opération : 128 020 euros (100 000 euros CPER part Etat ; 28 020 CPER part Région)

Financements privés : /

Autofinancement : /

Axe / objectif thématique / objectif spécifique mobilisé : principal : Axe 1 / OT 1 / PI 1a / OS 1a

Programme CPER : HABISAN



Réunion de la Commission Recherche
Séance du 5 avril 2018

Dossier CPER / FEDER pour approbation de l'opération et du plan de financement
avant soumission au Comité régional de Programmation

<i>Evaluation de la thérapie cellulaire appliquée au cerveau par Vidéotracking</i>

Porteur : Afsaneh GAILLARD

Période prévisionnelle d'exécution : Du 01/07/2017 au 01/04/2022

Description de l'opération :

I. Contexte et positionnement Scientifique

Notre projet est axé sur le développement des traitements dans le cadre des maladies du cerveau. Nous nous intéressons plus particulièrement aux lésions observées dans le cerveau à la suite d'un accident traumatique (accident de la route, chute) ou des lésions observées dans le cerveau des patients atteints de la maladie de Parkinson en utilisant deux modèles précliniques différents.

Une personne sur 8 en Europe est concernée par les maladies du cerveau et ce chiffre va encore augmenter avec le vieillissement de la population. Les maladies du cerveau représentent un problème de santé publique en raison du handicap du patient, de l'impact sur les familles et du coût de leur prise en charge, notamment. Un traumatisme crânien survient à la suite d'un choc violent dû à un accident ou à une agression. Elle touche 900.000 individus en Europe avec plus de 120 000 cas chaque année en France, dont 10.000 sont sévères avec des séquelles et des handicaps invalidants.

La maladie de Parkinson est la seconde maladie neurodégénérative la plus fréquente. Elle concerne 1,5% des personnes de plus de 60 ans et 4% des personnes de plus de 85 ans et la maladie touche plus de 200 000 personnes en France. Elle est causée par la mort progressive des neurones d'une région profonde du cerveau, la substance noire. Ces neurones, appelés dopaminergiques, produisent et utilisent la molécule de dopamine pour communiquer entre eux ont un rôle essentiel dans le contrôle du mouvement. La maladie se manifeste par un ralentissement des mouvements, des tremblements et une perte de la dextérité manuelle. Aujourd'hui il n'existe aucun traitement curatif pour ces maladies.

Notre équipe s'intéresse depuis plusieurs années à trouver des approches thérapeutiques permettant de remplacer les neurones morts ou défaillants dans le cerveau dans ces deux conditions pathologiques avec des nouveaux neurones en bonne santé. Notre équipe a montré pour la première fois la possibilité de réparation des circuits lésés dans le cerveau, par transplantation de neurones fœtaux. Toutefois, pour des raisons éthiques l'utilisation de cellules fœtales n'est pas envisageable en clinique. Notre objectif est d'obtenir des neurones à partir de cellules souches et d'évaluer leurs potentiels thérapeutiques chez des modèles animaux qui miment les lésions traumatiques corticales et la maladie de Parkinson. Parmi les sources potentielles de cellules transplantables, les cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPSC) semblent la plus prometteuse. En effet, les hiPSC représentent théoriquement une source illimitée de cellules capable de se différencier vers n'importe

quel type cellulaire. De plus, les hiPSC sont obtenues à partir des cellules du patient ce qui élimine le risque de rejet après la transplantation et leur utilisation ne pose pas de problème éthique.

Nous proposons d'utiliser les fibroblastes obtenus à partir de dermes humains, afin de les reprogrammer en cellules souches induites à l'aide d'un cocktail d'ARNm de facteurs de pluripotences. La technologie de reprogrammation par ARNm permet la génération d'hiPSC dans des conditions non-hypoxiques, sans cellules nourricières et en éliminant les risques d'intégration génomique. Après la validation du caractère pluripotent des cellules, nous proposons d'induire leur différenciation in vitro en neurones corticaux ou dopaminergiques. Après la caractérisation des neurones dérivés d'hiPSC, les précurseurs corticaux ou dopaminergiques dérivés de ces cellules seront greffés dans un modèle animal mimant les lésions traumatiques corticales ou la maladie de Parkinson. L'intégration des neurones greffés sera évaluée sur le plan neuroanatomique et fonctionnelle. Pour évaluer les difficultés motrices engendrées par la lésion nous utiliserons le test de préhension de nourriture. L'appareillage est formé d'une plate-forme centrale élevée, avec deux escaliers placés de chaque côté de la plate-forme. Chaque escalier est formé de huit marches contenant des boulettes de nourriture à base de glucose. Le nombre total de boulettes sur chaque côté pendant la session de test, fournit une mesure de capacités motrice pour chaque patte indépendamment, qui exige des capacités sensorielles, la dextérité et la coordination moteur. Afin d'analyser la cinétique de mouvement pendant la prise des boulettes sucrées, des enregistrements vidéo seront effectués et le logiciel de capture de mouvement SIMI sera utilisé pour obtenir les coordonnées 3D des mouvements.

II. Présentation de la structure et de l'opération

Le Laboratoire des Neurosciences Expérimentales et Cliniques (LNEC) est une unité mixte de recherche de l'INSERM et l'Université de Poitiers créée en 2012 et renouvelée en janvier 2018. LNEC a été classé « excellent » à « exceptionnel » pour tous les critères par le « Conseil supérieur d'évaluation de la recherche et de l'enseignement supérieur » (2018-2022). L'unité est composée de trois équipes: Thérapies cellulaires dans les pathologies cérébrales dirigée par Pr. A. Gaillard, Neurobiologie et neuropharmacologie de l'addiction, dirigée par Dr. M. Solinas et Neurobiologie des réseaux neuronaux codirigée par les Drs. M. Jaber et PO Fernagult. Ces trois équipes travaillent sur les pathologies cérébrales telles que les lésions cérébrales traumatiques, la maladie de Parkinson, l'addiction, les déficits attentionnels, l'hyperactivité et les troubles envahissants du développement.

Notre équipe, a une renommée nationale et internationale dans le domaine de thérapie cellulaire appliqué à la maladie du cerveau comme démontré par les publications dans les meilleures revues internationales (Nature, Nature Neuroscience, Neuron, TINS...) et les invitations à présenter ses travaux dans les congrès internationaux. Dans les dernières années notre équipe a obtenu des prix et des financements prestigieux à niveau national comme un financement de la Fondation de la Recherche Médicale, ANR, plusieurs financements de la Fondation de France et la Fédération de recherche sur le cerveau.

Dans ce projet nous allons étudier l'efficacité et la faisabilité de la transplantation cellulaire comme une approche thérapeutique dans les traumatismes crâniens et dans la maladie de Parkinson. Afin d'évaluer l'efficacité de la transplantation, nous avons besoin d'étudier le devenir des neurones greffés dans le cerveau malade, pour cela nous utilisons plusieurs approches comme la biologie moléculaire pour étudier l'inflammation et ou bien des tests de comportement, afin d'évaluer l'intégration fonctionnelle des neurones greffés. Comme le symptôme le plus invalidant chez les patients atteint de la maladie de Parkinson et les patients à la suite des lésions traumatiques du cortex moteur est le problème de mouvement, on s'intéresse à vérifier si la transplantation de neurones permet d'améliorer ces troubles et plus précisément la dextérité manuelle. L'aspect fonctionnel sera mesuré sur le plan locomoteur ainsi que sur le plan cognitif avec l'utilisation de tests comportementaux évaluant la mémoire spatiale. L'activité fonctionnelle sera directement reliée à l'activité neuronale en utilisant une nouvelle technologie de microscopie in vivo. Pour cela, nous proposons d'utiliser le système de Vidéotracking combiné à des tests de comportement moteurs permettant de mesurer de capacités motrice pour chaque patte indépendamment, qui exige des capacités sensorielles, la dextérité et la

coordination moteur. Afin d'analyser la cinétique de mouvement pendant la prise des boulettes sucrées, des enregistrements vidéo seront effectués et le logiciel de capture de mouvement sera utilisé pour obtenir les coordonnées 3D des mouvements.

Les effets du traitement sur le comportement cognitif et social des animaux seront étudiés en utilisant le test de paradigme social à trois chambres. Le suivi fonctionnel se fera aussi en électrophysiologie grâce à des équipements existants sur site complétés par l'osmomètre permettant de contrôler l'osmolarité des solutions utilisés pour l'électrophysiologie sur tranche sur cerveau normal, lésé puis sur cerveau lésé et transplanté afin de déterminer l'activité physiologique de base, l'activité après lésion et le rétablissement de l'activité physiologique après transplantation.

Le post-doctorant assurera la mise en place et le suivi de l'évaluation fonctionnelle des transplants en utilisant les tests de comportement et les approches électrophysiologies.

Objectifs recherchés par le porteur de projet :

Une personne sur 8 en Europe est concernée par les maladies du cerveau et ce chiffre va encore augmenter avec le vieillissement de la population. Les maladies du cerveau représentent un problème de santé publique en raison du handicap du patient, de l'impact sur les familles et du coût de leur prise en charge, notamment. Il n'existe malheureusement pas de traitement curatif de ces maladies à l'heure actuelle.

Notre équipe s'intéresse depuis plusieurs années à trouver des approches thérapeutiques permettant de remplacer les neurones morts ou défaillants dans le cerveau avec des nouveaux neurones en bonne santé. Notre équipe a montré pour la première fois la possibilité de réparation des circuits lésés dans le cerveau, par transplantation de neurones fœtaux ou des neurones dérivés de cellules souches embryonnaires. Toutefois, pour des raisons éthiques l'utilisation de cellules fœtales n'est pas envisageable en clinique. Notre objectif est d'obtenir des neurones à partir de cellules souches et d'évaluer leurs potentiels thérapeutiques chez des modèles animaux qui miment les lésions traumatiques corticales.

L'objectif de nos travaux est de trouver des traitements efficaces et à long terme pour des lésions touchant le cerveau à la suite d'un trauma ou la maladie de Parkinson. Ce projet scientifique ambitieux utilise un nombre important de technique et de compétences.

Résultats escomptés :

Ce projet aura des retombées très importantes pour les civils exposés à des combats, des attentats ou des traumatismes cérébraux (TC) et les patients atteints de la maladie de Parkinson (MP). En effet, en Europe chaque année, 2,5 millions de personnes souffrent d'un TC et les coûts sociaux se montent à plus de 50 milliards d'euros/an. Le TC a été clairement associé à une augmentation de 2,3 à 4,5 fois le risque de développer des maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson et d'Alzheimer. Les découvertes que nous aurons faites auront des retombées importantes dans le domaine de la réparation des lésions du cerveau aussi bien chez les jeunes (lésions traumatiques de l'enfant) et des personnes âgées (maladie du cerveau liées à l'âge comme la maladie d'Alzheimer et Parkinson). Aussi, les enjeux sociétaux et économiques de ce projet original, qui s'inscrit entièrement dans l'axe thématique biologie et biotechnologie, sont clairs au niveau national, Européen et international.

Diffusion scientifique

Les résultats obtenus présentés dans des congrès nationaux et internationaux ainsi que lors des colloques ou des présentations grand public (Espace Pierre Mendès-France, Poitiers) aboutiront à des publications scientifiques dans des journaux à haut facteur d'impact.

Des collaborations seront développées avec des partenaires afin de déposer des demandes de financement au niveau européen pour l'évaluation clinique des thérapies cellulaires grâce aux progrès permis par le présent projet.

Diffusion dans la société et vulgarisation

Les résultats obtenus présentés auprès de la société civile, en particulier au travers de partenariats avec l'Espace Mendès-France.

- L'organisation de séminaire et d'exposition en partenariat avec l'Espace Mendès France, comme nous l'avons déjà fait dans le passé « Le cerveau à tous les âges ».
- L'organisation d'animations envers d'établissements scolaires de la région.

Principales actions présentées :

- **WP1** : Obtention des modèles animaux et la transplantation des neurones dérivés de cellules souches
- **WP2** : Etude de la fonctionnalité des neurones greffés
- **WP3** : Etude de la restauration des circuits endommagés sur le plan neuroanatomique

Nombre de chercheurs recrutés / affectés : 6

Coût total : 277 100 euros HT

Montant de l'aide européenne sollicitée : 177 100 euros, soit 63.91% du coût du projet

Autre financement public sollicité sur l'opération : 100 000 euros (CPER part Etat)

Financements privés : /

Autofinancement : /

Axe / objectif thématique / objectif spécifique mobilisé : principal : Axe 1 / OT 1 / PI 1a / OS 1a

Programme CPER : HABISAN