

Génoptole Toulouse



Genotoul
GENOPOLE TOULOUSE

FAITS MARQUANTS 2018

Un réseau de compétences et de plateformes de recherche
en sciences du vivant

Mesdames, Messieurs,
Chers Collègues, chers Amis,

Une nouvelle année vient de s'écouler.

Génotoul a apporté sa pierre aux avancées technologiques et scientifiques réalisées au cours de l'année 2018. Vous en trouverez quelques exemples dans cette nouvelle édition des faits marquants.

Ce petit fascicule vous permettra surtout d'appréhender ce qui fait la richesse du réseau : les femmes et les hommes présents sur les plateformes. Leurs compétences et savoir-faire, leur implication dans des projets de recherche via des technologies de pointe permettent à l'ensemble de la communauté des biologistes toulousains mais bien au-delà, de participer au développement des connaissances et à leurs applications.

Merci à tous.

Génotoul est au service des acteurs.

La direction continuera les actions entreprises pour fédérer, faciliter et former.

■ **Fédérer par :**

- la mise en place de l'appel d'offre interne annuel pour favoriser l'interconnexion entre plateformes du GIS.
- l'organisation d'une Assemblée Générale pour l'ensemble du personnel.

■ **Faciliter :**

- l'organisation par les plateformes de différentes journées et colloques par un soutien logistique et/ou financier.
- la communication et les échanges entre personnels par l'ouverture d'un site intranet mais aussi par l'animation du site web (<http://www.genotoul.fr/>) et du compte twitter (@Genotoul).

■ **Former :**

- à travers la décision de proposer des formations prises en charge par Génotoul.

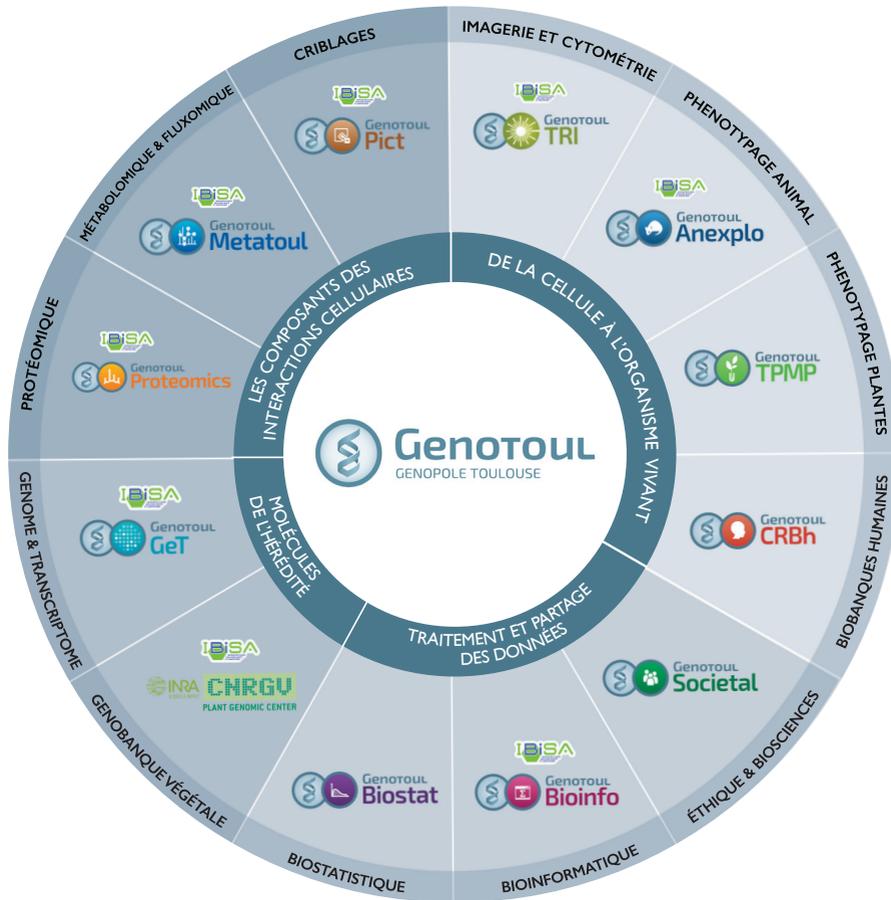
L'intelligence collective qui a permis la mise en place de Génotoul, sa structuration, son dynamisme, lui donne une place et une visibilité particulières dans le paysage toulousain et national. Une place qui nous est enviée par d'autres disciplines ou d'autres régions. À nous de savoir la préserver et surtout diffuser le modèle malgré ses quelques imperfections.

Je suis un fervent convaincu de l'adage « L'union fait la force » même dans une époque où l'individualisme est la règle.

Alors continuons à cultiver la symbiose.

Luc Pénicaud
Directeur du GIS Génotoul

Un réseau de plateformes en sciences du vivant



IBISA Gis - Infrastructures en Biologie Santé et Agronomie

10 000 m² mobilisés sur les différents sites

282

projets
en partenariat nationaux,
européens, internationaux

53

projets
collaboratifs
avec des entreprises

1208

projets
nationaux en prestation



311 agents mobilisés
représentant
228 ETP

+ de 12 M€

de ressources
hors salaires permanents

Nos plateformes sont investies dans des :

Infrastructures nationales

- Biobanques
- CELPHEDIA
- ChemBioFrance
- F-CRIN
- France Génomique
- IBISBA
- Institut Français de BioInformatique
- ISC INRA
- MetaboHub
- PROFI

Infrastructure européenne

- EIT Health France

Démonstrateur

- Toulouse White Biotechnology

Equipex

- ANINFIMIP

**Toutes sont ouvertes
vers le monde de l'industrie**

Formations dispensées par les plateformes :

1011 personnes formées
(public-privé)



Interventions dans les :

- masters,
- écoles doctorales,
- écoles d'ingénieurs.

En France comme à l'étranger

192

articles scientifiques
publiés dans des revues avec comité
de lecture

Un fort soutien de l'État, de la Région Occitanie, de l'Europe



PROJET COFINANCÉ PAR LE FONDS EUROPEEN DE DEVELOPPEMENT REGIONAL

Apporter la technologie et l'expertise pour susciter de nouvelles idées

L'équipe GeT compte aujourd'hui 39 personnes affectées sur 4 sites : GeT-PlaGe, GeT-Biopuces, GeT-Trix et GeT-Santé.

Restructuration des sites GeT pour la communauté Santé

Pour mieux répondre aux besoins de R&D de la communauté scientifique santé, la plateforme GeT s'est restructurée en septembre 2018. Les ingénieurs Inserm issus de GeT-TQ (Jean-José Maoret & Frédéric Martins) et de GeT-Purpan (Emeline Lhuillier), se regroupent au sein de l'IMC (CHU Rangueil) pour former la nouvelle équipe GeT-Santé et travailler avec une plus grande synergie.

GeT-Santé disposera du matériel que vous trouviez à GeT-TQ (dont la ddPCR récemment acquise), et de l'expertise développée sur les deux sites GeT-TQ et GeT-Purpan.

GeT-Santé a aussi l'ambition d'accompagner les équipes de recherche en santé dans le développement de nouvelles techniques, et de faciliter l'accès à une offre plus complète basée sur le matériel et l'expertise présents sur GeT : séquençage haut débit et très haut débit sur Illumina, séquençage long reads sur Oxford Nanopore, ainsi que la Génomique sur cellules uniques autour de la solution 10x Genomics / Illumina.



De nouveaux équipements pour le séquençage en Long et en Short Reads

En 2018, la plateforme GeT a choisi d'investir sur 2 axes technologiques stratégiques :

1. Séquençage Long Reads sur **MinIon**, **GridION** et **PromethION** Oxford Nanopore : pour l'analyse de variants structuraux et le séquençage de novo basé sur une technologie novatrice.
2. Séquençage Short Reads sur **NOVASEQ** Illumina : cette technologie permet de produire plus de 2,4Tb de données de qualité par run, soit plus de 100 génomes mammifères en 30X par semaine, avec un coût au Gb réduit.



Responsable scientifique :

Denis Milan

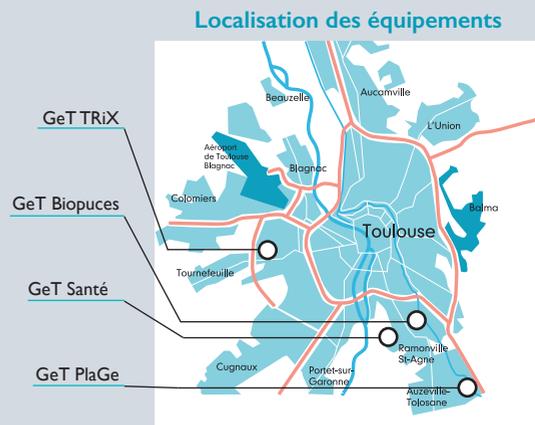
Responsables sites :

Cécile Donnadieu, Yannick Lippi, Jean-José Maoret, Marie-Ange Teste

Contacts : get@genotoul.fr

Site web : <http://get.genotoul.fr/>

@Get_Genotoul



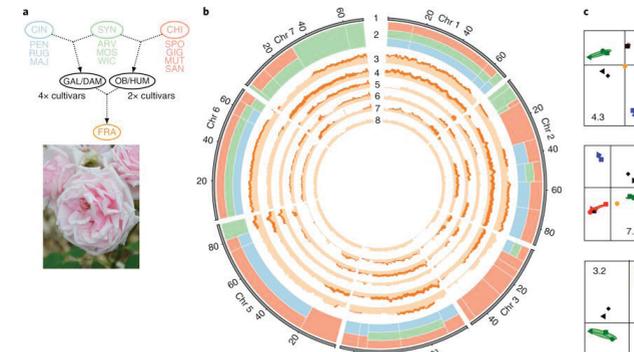
Le fait marquant scientifique : Le séquençage du génome de la Rose

Célébrée depuis l'Antiquité par de nombreux artistes, appréciée pour son parfum et la beauté de sa fleur, la rose est aujourd'hui la fleur coupée la plus achetée en France tandis que le rosier est une plante ornementale incontournable de nos jardins et de nos balcons, fruits de nombreux croisements et hybridations.

Grâce à un consortium international impliquant l'INRA (Toulouse, Versailles, Clermont), l'ENS de Lyon, le CEA (Genoscope), le CNRS et l'Université Claude Bernard Lyon 1, le génome du rosier vient d'être décrypté, une étape essentielle pour comprendre sa biologie et l'origine de sa diversité. Trois sites de l'infrastructure nationale France Génomique (Genoscope, URGI & GeT) ont collaboré à ces travaux.



Combiner les technologies pour un meilleur assemblage du génome



GeT-PlaGe a contribué à ce travail en séquençant le génome de *Rosa chinensis* 'Old Blush' en profondeur 40 X sur séquenceur PacBio RSII acquis sur fonds FEDER. Combinés à d'autres approches, ces travaux ont permis la réalisation d'un assemblage de qualité du génome, outil de base pour la suite de cette étude.

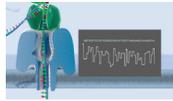
PUBLICATION

- Raymond et al., The Rosa genome provides new insights into the domestication of modern roses, Nature Genetics, 2018

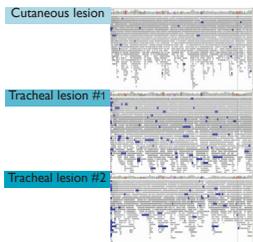
Le fait marquant technologique :

Apport de la technologie « Long Reads » Oxford Nanopore

La technologie Oxford Nanopore est basée sur la détection d'un potentiel électrique lors du passage du brin d'ADN dans un pore protéique. Cette technologie permet de séquencer en temps réel, des brins natifs de très grande longueur (jusqu'à 100kb), sans étape d'amplification de l'ADN.



Cette technologie « Long Reads » se décline sur des instruments à plusieurs échelles : du modèle portable qui peut être utilisé sur le terrain, au modèle plus performant qui produit jusqu'à 120Gb de données par run. Ci-dessous, trois exemples de projets pilotes ayant permis de valider la technologie.

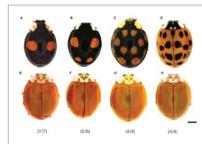


Identifier et évaluer la charge virale par séquençage complet du génome

La variole aviaire est une maladie infectieuse causée par les virus de la variole aviaire (APV), qui entraîne des lésions cutanées et/ou trachéales. Elle peut avoir un impact économique majeur sur la volaille gallinacée et constitue une préoccupation émergente pour la faune. Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de Jean-Luc Guérin (IHAP), nous avons développé un protocole afin de détecter en temps réel et sans amplification le type de virus et le niveau de charge virale. Ces travaux ont été publiés dans *Journal of Virological Methods*.

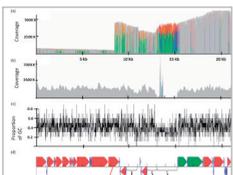
Identifier des variations structurales

De nombreuses espèces animales présentent des formes phénotypiques distinctes. Dans le cadre d'un programme collaboratif piloté par l'INRA Montpellier et le CNRS Marseille, nous avons séquencé la région du génome (170kb) et identifié grâce aux lectures long reads les variations structurales impliquées dans l'apparition de couleurs différentes chez la coccinelle arlequin *Harmonia axyridis*. Travaux publiés dans *Current Biology*.



Caractériser des régions génomiques complexes

Dans le cadre de ce projet pilote avec une unité CNRS/Université de La Rochelle, nous avons séquencé le génome mitochondrial complet d'une espèce de Procellariiformes, *Puffinus lherminieri*. Nous avons identifié une région dupliquée, et détecté une région complexe répétée de longueur indéterminée entre le CR et le 12S indiquant une évolution complexe du mitogénome. Travaux publiés dans *Mitochondrial DNA*.



VALORISATION

- Guerin et al., Rapid whole-genome based typing and surveillance of avipoxviruses using nanopore sequencing, *Journal of Virological Methods*, 2018
- Prud'homme et al., The Genomic Basis of Color Pattern Polymorphism in the Harlequin Ladybird, *Current Biology*, 2018
- Pante et al., Evidence for a duplicated mitochondrial region in Audubon's shearwater based on MinION sequencing, *Mitochondrial DNA*, 2018

Innover grâce à une meilleure compréhension de la structure des génomes des plantes



Le Centre National de Ressources Génomiques Végétales (CNRGV) est une infrastructure nationale spécialisée dans la génomique. En proposant des ressources et des solutions innovantes pour l'étude des génomes complexes, le CNRGV joue un rôle clé sur la scène internationale.

Plus de 48 millions d'échantillons sont disponibles au CNRGV
470 banques génomiques, correspondant à différents génotypes de 28 espèces de plantes comme le blé, l'orge, le maïs, le tournesol, le pois, la canne à sucre...

Hélène Bergès a reçu un prix de la part du consortium international de séquençage du blé (IWGSC : International Wheat Genome Sequencing Consortium). Ce prix du leadership vient en récompense de la contribution exceptionnelle du CNRGV au sein du consortium et notamment de son rôle dans le management et la mise à disposition des ressources et outils génomiques de blé auprès des collaborateurs internationaux (<https://www.wheatgenome.org/People/Leadership-Award/2018-Awardees/He-le-ne-Berges>) Ce prix a été créé en 2013 par les responsables de l'IWGSC afin de reconnaître les réalisations importantes, y compris les grandes étapes scientifiques, qui n'auraient pas été accomplies sans la démonstration du leadership exceptionnel et de l'engagement d'un individu ou d'un groupe à l'égard de l'objectif général.



Dans le cadre de la préparation du projet GAIA, le CNRGV a participé à différents congrès autour de l'étude génomique de la biodiversité

Le CNRGV s'implique pour promouvoir la place des femmes dans la science. Le projet « La science taille XXELLES » porté par le CNRS et l'association Femmes et Sciences, met en lumière des femmes scientifiques et la diversité des métiers scientifiques et techniques pour aller à l'encontre des stéréotypes. Une exposition artistique de 12 portraits de femmes scientifiques toulousaines, a été réalisé par Vincent Moncorgé.



Responsable scientifique :

Hélène Bergès

Responsables opérationnels :

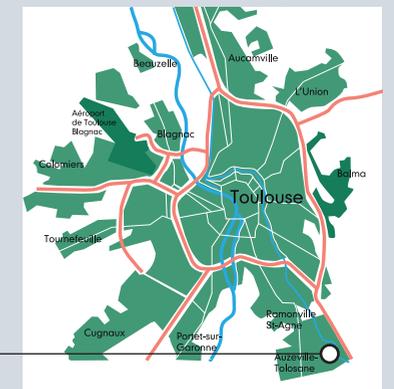
Arnaud Bellec – Sonia Vautrin

Contact : infocnrgv@toulouse.inra.fr

Site web : <http://cnrgv.toulouse.inra.fr>

@CNRGV

Localisation des équipements



CNRGV

Le fait marquant scientifique :

De nouvelles perspectives pour l'amélioration variétale du blé et sa culture : le séquençage du génome du blé est aujourd'hui réalisé

Le Consortium international de séquençage du génome du blé (IWGSC), dans lequel l'Inra occupe une position de leader, a publié la première séquence de référence du génome du blé dans la revue Science du 17 août 2018. Des équipes françaises dont le CNRGV, ont contribué à ce véritable exploit scientifique en raison de la taille et de la complexité de ce génome, cinq fois plus gros que le génome humain et 40 fois plus gros que celui du riz. Ce résultat permettra notamment l'identification de gènes d'intérêt agronomique, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour l'amélioration des variétés de blé et de sa culture, face aux défis planétaires à relever. C'est également une étape majeure au plan fondamental, pour comprendre le fonctionnement et l'évolution de ce génome complexe. Le CNRGV fait partie de ce consortium depuis sa création en 2005 par un groupe de producteurs de blé et de sélectionneurs publics et privés, et qui compte plus de 2400 membres répartis dans 68 pays. Le CNRGV est centre de références pour l'ensemble des ressources génomiques du blé.



Le fait marquant technologique :

Des cartes optiques pour atteindre une grande qualité d'assemblage des génomes complexes

Afin de faciliter l'étude des génomes complexes dans leur globalité le CNRGV s'est doté de la technologie Irys® en 2016 puis du Saphyr en 2018 de BioNano Genomics (<http://bionanogenomics.com/>). C'est un outil précieux pour avoir une vision globale de l'organisation des génomes. La cartographie optique est basée sur la visualisation directe de longues molécules d'ADN (100 kb à 2 Mb) marquées par fluorescence par une enzyme reconnaissant une séquence spécifique. Les images des molécules d'ADN marquées et séparées sur une puce dans des nanochannels, sont analysées afin d'obtenir un « code-barre » spécifique pour chaque molécule. En comparant leurs codes-barres, les molécules d'ADN sont ensuite assemblées pour donner une carte physique du génome étudié. Les principales applications de cette technologie sont la finition de l'assemblage des séquences génomiques et l'étude des variations structurales entre différents génotypes. Cette technologie offre donc de nouvelles possibilités pour contribuer à la compréhension des génomes.

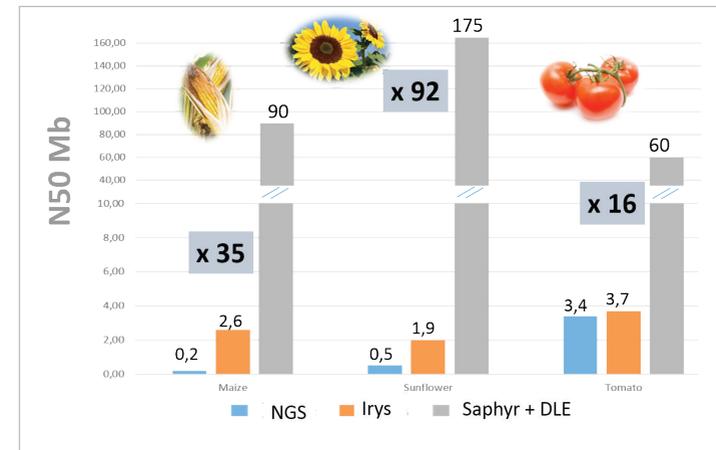


Figure 1 : Augmentation considérable de la N50 des cartes optiques grâce à la nouvelle chimie

En 2018, la nouvelle chimie de marquage de l'ADN combinée au nouveau système Saphyr a révolutionné la construction des cartes optiques qui atteignent désormais la taille des chromosomes. Ainsi, pour plusieurs projets menés en collaboration avec divers laboratoires, un assemblage hybride (Hybrid Scaffolding) combinant la carte optique Bionano et des données de séquences obtenues avec les dernières technologies de séquençage a permis de réduire le nombre de séquences au nombre de chromosomes soit 17 chez le tournesol, par exemple. Ce travail très récent a été réalisé sur une diversité d'espèces végétales (maïs, colza, tournesol, tomate ...) (fig. 1).

PUBLICATIONS

Autre contribution du CNRGV au séquençage de génomes végétaux <https://cnrgv.toulouse.inra.fr/en/Communication/Scientific-Publications/2018>

Blé

- Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome. Science, doi: 10.1126/science.aar7191.

Canne à sucre

- A mosaic monoploid reference sequence for the highly complex genome of sugarcane. Nat Commun, doi: 10.1038/s41467-018-05051-5.

Medicago

- Whole-genome landscape of Medicago truncatula symbiotic genes. Nat Plants, doi: 10.1038/s41477-018-0286-7.

Chêne

- Oak genome reveals facets of long lifespan. Nat Plants, doi: 10.1038/s41477-018-0172-3.

Répondre aux besoins de traitement à grande échelle en sciences de la vie

Genotoul Bioinfo met à disposition de ses utilisateurs une infrastructure matérielle et logicielle performante dédiée aux besoins en bioinformatique. Cette infrastructure comprend :

- Un cluster de calcul de plusieurs milliers de cœurs
- Un espace de stockage de plusieurs Po
- Des serveurs hébergeant une centaine de machines virtuelles
- Près de 1000 logiciels du domaine mutualisés
- Plus de 200 banques de données mises à jour, indexées et partagées

Genotoul Bioinfo est une plateforme de l'Institut Français de Bioinformatique (IFB).

Fin 2018, l'équipe s'agrandit : 9 personnels permanents correspondant à 6,3 ETP.

Elle s'appuie sur son savoir-faire interne et son réseau de compétences pour accompagner les besoins des programmes scientifiques en sciences du vivant sur :

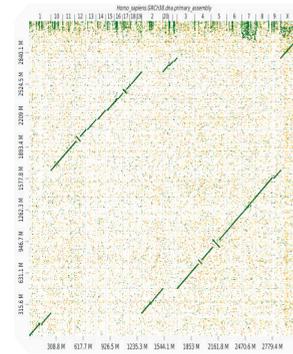
- Le traitement à grande échelle des données « omiques »
- Le développement d'outils innovants en concertation avec la communauté scientifique et les autres plateformes nationales
- La formation continue à l'utilisation de l'infrastructure et au traitement de données
- Le support aux plateformes de production de données



Les faits marquants scientifiques : Des outils et des compétences pour l'assemblage de génomes...

Les technologies de séquençage, de plus en plus performantes, permettent aujourd'hui de produire, à des coûts raisonnables, les données permettant de reconstruire les séquences complètes de génomes complexes. Dans un objectif de contribuer à une meilleure connaissance de ces génomes complexes, Genotoul Bioinfo développe des compétences et des outils pour l'assemblage et l'annotation de génomes. En 2018, Genotoul Bioinfo met en avant deux contributions autour de l'assemblage de génomes.

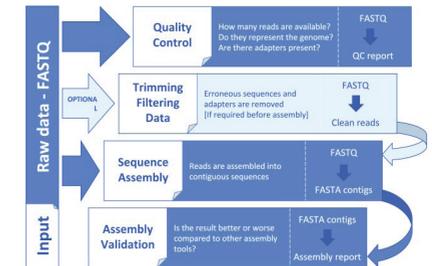
D-Genies : accompagner l'assemblage de génomes



Les « Dot plots » sont très utilisés pour comparer rapidement des ensembles de séquences. Ils fournissent une vision synthétique des similarités entre séquences et permettent de repérer facilement les répétitions, les inversions. Alors que la plupart des outils sont limités dans la taille des séquences qu'ils sont capables de visualiser, D-GENIES permet la visualisation de l'alignement de grands génomes, différents niveaux de « zoom » dans l'alignement, la génération interactive de « dot plots » et la sauvegarde des images d'intérêt correspondantes. Pour en savoir plus : <http://bioinfo.genotoul.fr/index.php/software-development/our-softwares/>

Une expertise sur l'assemblage de génomes mobilisée dans le cadre des formations ELIXIR

Depuis quelques années, dans le cadre du programme ELIXIR-EXCELERATE, l'équipe a apporté sa contribution à la formation à l'assemblage de novo de génomes complexes. L'expérience acquise a permis de poser les questions essentielles avant de se lancer dans l'aventure du séquençage d'un génome eucaryote complexe.



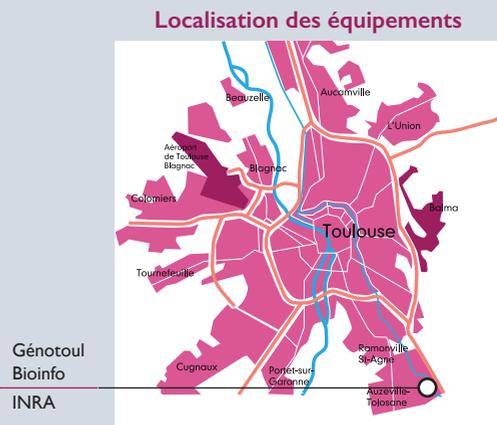
Animation de la plateforme :

Christine Gaspin
Claire Hoede
Christophe Klopp

Contact :
anim.bioinfo@toulouse.inra.fr

Site web : <http://bioinfo.genotoul.fr>

@BioinfoGenotoul



PUBLICATIONS

- Dominguez Del Angel V, Hjerde E, Sterck L, Capella-Gutierrez S, Notredame C, Vinnere Pettersson O, Amselem J, Bourl L, Bocs S, Klopp C, Gibrat JF, Vlasova A, Leskosek BL, Soler L, Binzer-Panchal M, Lantz H. Ten steps to get started in Genome Assembly and Annotation. F1000Res. 2018 Feb 5;7. pii: ELIXIR-148. doi:10.12688/f1000research.13598.1.
- Cabanettes F, Klopp C. D-GENIES: dot plot large genomes in an interactive, efficient and simple way. PeerJ. 2018 Jun 4;6:e4958. doi: 10.7717/peerj.4958.

Le fait marquant technologique :

La nouvelle infrastructure de calcul et de stockage est en production

L'année 2018 marque la mise en production de nouveaux équipements, hébergés dans le *data center* du site Inra d'Auzerville-Tolosane. Ces nouveaux équipements dont l'acquisition s'inscrit dans le projet d'infrastructure nationale de l'IFB, visent à déployer des solutions répondant aux besoins des utilisateurs des sciences de la vie sur les différents nœuds du réseau de la fédération nationale académique.



Data center du site INRA

La nouvelle infrastructure apporte de l'agilité. Elle permet d'augmenter les performances et la capacité du système de stockage parallèle. Il devient plus facile de déployer des environnements logiciels complets correspondant à la demande.

2018 : les nouveaux nœuds de calcul sont en production et viennent progressivement renforcer l'ancien cluster :

- 48 nœuds avec deux processeurs Intel Broadwell E5-2683v4 (16 cœurs, 2,1 GHz), 256 Go de RAM
- 1 nœud Bigmem SMP avec 48 cœurs, 2,2 GHz, 1536 Go de RAM, 22 To de stockage dédié
- 1 nœud de visualisation avec deux processeurs Intel Broadwell E5-2683v4 (16 cœurs, 2,1 GHz), 128 Go de RAM, carte GPU Nvidia Tesla K40
- Une interconnexion haut débit et faible latence (56Gbits/s)

2018 : les pratiques changent...

- Pour une répartition optimale des jobs, SLURM remplacera SGE
- La visualisation 3D à distance devient possible
- Les technologies du cloud seront évaluées.



Le nouveau cluster

VALORISATION

Nos utilisateurs

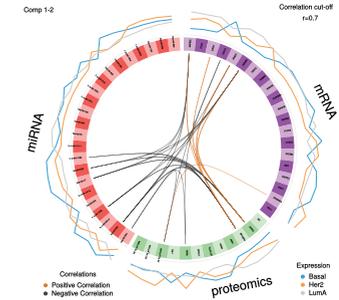
Plus de 1300 utilisateurs utilisent les ressources de la plateforme bioinformatique Génotoul Bioinfo en 2018 dont plus de 50 % sont localisés en région Occitanie.

Ils nous remercient ou publient avec nous

Plus de 50 articles remercient la plateforme bioinformatique Génotoul Bioinfo en 2018 (<http://bioinfo.genotoul.fr/index.php/about-us/publications>)

Accompagner l'analyse des données issues des nouvelles bio-technologies

La plateforme de Biostatistique se présente comme un carrefour de compétences en statistique pour la biologie, dédié à la recherche, à la formation et à l'animation scientifique au sein de la communauté scientifique toulousaine. Elle apporte son soutien aux chercheurs en biologie au travers de collaborations et du portage joint de projets appliqués. La plateforme organise et anime également des formations périodiques ou ponctuelles autour de l'analyse statistique, de l'intégration de données multivariées ou de la maîtrise du langage d'analyse statistique R.



Formation

En 2018, la plateforme de Biostatistique a poursuivi ses actions de formation :

- Octobre 2018 : Initiation à ggplot2 et aux graphiques interactifs avec R.
- Septembre 2018 : Initiation à la statistique avec R.
- Juin 2018 : Initiation à la programmation R.

Les formations récurrentes ou les formations ponctuelles que nous assurons continuent à évoluer à partir des sollicitations que nous recevons et des retours des participants. En particulier, les formations à R intègrent de plus en plus les nouveautés liées à *tidyverse*, un ensemble de *packages* dédié à la science des données dont la popularité est grandissante dans la communauté (bio-)statistique.

Un réseau étendu

La plateforme de biostatistique dispose désormais de personnes relais dans plusieurs laboratoires toulousains :

- Jason Iacovoni à l'Institut de Maladies Métaboliques et Cardio-vasculaires,
- Marion Aguirrebengoa au Centre de Biologie Intégrative,
- Sandrine Laguerre au Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés,
- David Rengel au Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (changement prévu en 2019),
- Cathy Maugis-Rabusseau à l'Institut de Mathématiques de Toulouse (site de l'INSA).

Animateurs :

Sébastien Déjean, David Rengel, Nathalie Vialaneix

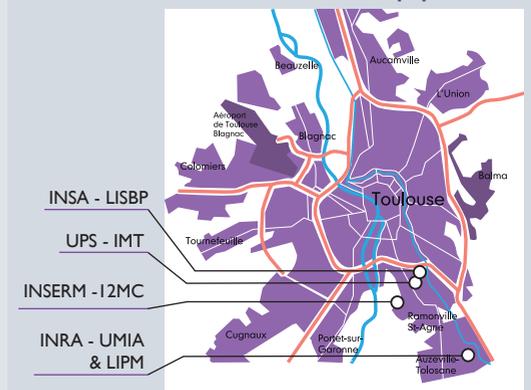
Contact :

biostat@math.univ-toulouse.fr

Site web :

<https://perso.math.univ-toulouse.fr/biostat>

Localisation des équipements



Les faits marquants scientifiques :

Deux soutenances de thèse sur le thème de l'intégration de données

En octobre 2018, **Alyssa Imbert** a soutenu sa thèse, financée par la région Occitanie et la société Methodomics spécialisée dans les analyses statistiques pour la biologie, sur la gestion des données manquantes dans un contexte d'intégration de données. Ce travail, co-dirigé par Nathalie Vialaneix (Inra MIAI et plateforme de biostatistique) et Nathalie Viguerie (I2MC) permet de mener à bien une démarche d'intégration de données à partir de tableaux de tailles déséquilibrées. Ce cas de figure est relativement courant dans les analyses de données biologiques, car on ne dispose pas forcément de l'ensemble des données pour l'ensemble des individus. Ce travail a montré des résultats prometteurs pour améliorer l'inférence de réseaux à partir de données d'expression mesurées par la technologie RNA-Seq.

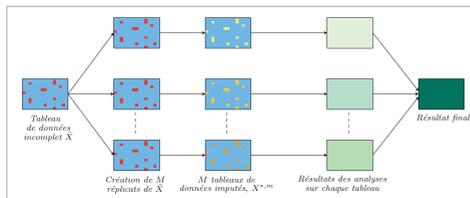


Illustration de la démarche d'imputation de données manquantes (thèse d'Alyssa Imbert)

En décembre 2017, Jérôme Mariette a soutenu sa thèse sur l'apprentissage statistique pour l'intégration de données omiques. Ce travail propose plusieurs contributions méthodologiques utiles à l'exploration simultanée de plusieurs jeux de données omiques de natures hétérogènes. Pour aborder cette question, les méthodes à noyaux offrent un cadre permettant de prendre en compte la nature propre de chacun des tableaux de données tout en permettant leur combinaison. L'efficacité des méthodes proposées est illustrée dans le contexte de l'écologie microbienne : huit jeux de données du projet TARA océans ont été intégrés et analysés à l'aide d'une analyse en composantes principales à noyaux. Ce travail est le fruit d'un échange toujours plus étroit entre les plateformes biostatistique et bioinformatique de Toulouse.

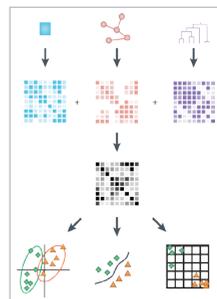


Illustration de l'intégration de données hétérogènes par méthodes à noyaux (thèse de Jérôme Mariette)

PUBLICATIONS

- Mariette, J., & Villa-Vialaneix, N. (2018). Unsupervised multiple kernel learning for heterogeneous data integration. *Bioinformatics*, 34(6), 1009–1015.
- Imbert, A., Valsesia, A., Le Gall, C., Armenise, C., Lefebvre, G., Gourraud, P., Viguerie, N., & Villa-Vialaneix, N. (2018). Multiple hot-deck imputation for network inference from RNA sequencing data. *Bioinformatics*, 34(10), 1726–1732.

VALORISATION

- Packages R disponibles sur le Comprehensive R Archive Network
- mixKernel: Omics Data Integration Using Kernel Methods, cran.r-project.org/web/packages/mixKernel
- RNAseqNet: Log-Linear Poisson Graphical Model with Hot-Deck Multiple Imputation <https://cran.r-project.org/web/packages/RNAseqNet>

Étudier les protéines dans tous leurs états



L'Infrastructure Protéomique de Toulouse dispose d'une instrumentation en spectrométrie de masse et d'outils bioinformatiques à la pointe du domaine. Elle vous propose une gamme très diversifiée d'analyses des protéines issues d'échantillons variés : cultures cellulaires, tissus, fluides biologiques, plantes...

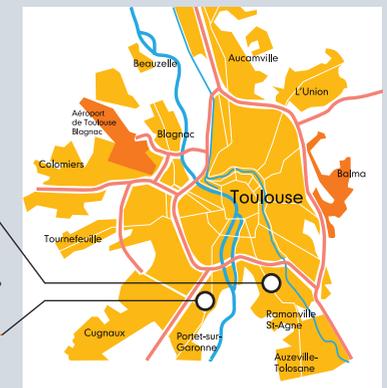
Son personnel expert vous accompagne dans vos projets de recherche et développement au travers d'un service allant de la prestation ponctuelle à la collaboration de recherche, que vous soyez du secteur public ou privé.

Services proposés :

- Identification et quantification de protéines dans des mélanges complexes
- Analyse de modifications post-traductionnelles
- Identification et dynamique de partenaires protéiques
- Stoechiométrie et architecture de complexes protéiques
- Quantification ciblée de protéines d'intérêt
- Analyse de protéines purifiées par spectrométrie de masse structurale
- Analyse bioinformatique de données protéomiques



Localisation des équipements



Responsable scientifique :

Odile Schiltz

Responsable site principal IPBS :

Odile Schiltz

Responsable site partenaire CRCT :

Frédéric Lopez

Contact :

proteomique@ipbs.fr

Site web :

<http://proteomique.ipbs.fr/>

Site principal :
IPBS, CNRS,
UMR5089

Site partenaire,
CRCT, Inserm,
U 1037

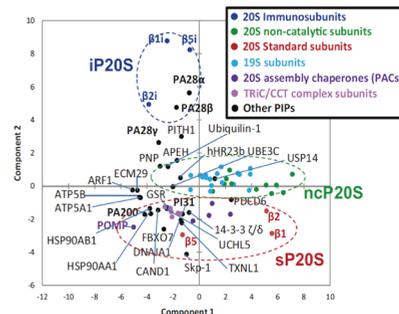
Le fait marquant scientifique :

Étude de la diversité et de la dynamique des complexes du protéasome

Le protéasome est un complexe multiprotéique impliqué dans la dégradation intracellulaire des protéines et représente une cible thérapeutique pour certains cancers. Il est constitué de plusieurs sous-complexes protéiques régulateurs associés à un complexe catalytique central possédant les activités protéolytiques. Au final, il existe une diversité importante de sous-complexes pouvant s'associer, ce qui conduit à une population très hétérogène et dynamique de complexes du protéasome. Ainsi, la caractérisation fine de l'ensemble de ces complexes est importante pour mieux comprendre le rôle des différents complexes de protéasome dans la cellule mais aussi pour affiner le développement d'inhibiteurs spécifiques de certaines formes du protéasome dans un but thérapeutique. Plusieurs approches complémentaires de protéomique quantitative ont permis de définir des interactions préférentielles et de déterminer la stoechiométrie des complexes.

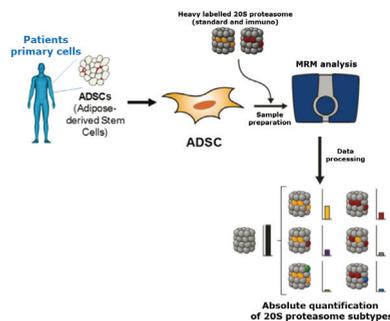
Complexes du protéasome : des associations qui ne se font pas au hasard

À partir de données de protéomique quantitative obtenues d'un ensemble de lignées cellulaires et de tissus, nous avons développé une méthode d'analyse des données à large-échelle basée sur une corrélation des profils des protéines constituant le protéasome (1). Nous avons ainsi pu montrer des associations préférentielles de certains régulateurs avec les différentes formes du cœur catalytique du protéasome (1). Nous avons également pu découvrir une nouvelle protéine jouant le rôle de régulateur d'un sous-complexe du protéasome (2) (collaboration O. Coux, CRBM, Montpellier).



Vers le suivi de la dynamique des complexes du protéasome dans les cellules souches

Les cellules souches dérivées d'adipocytes (ADSCs) sont utilisées en thérapie cellulaire. Le dosage du protéasome par protéomique ciblée nous a permis de montrer une variation de la composition du protéasome dans ces cellules entre des conditions hypoxiques et normoxiques, qui pourrait influencer sur la différenciation des ADSCs en adipocytes (3) (collaboration I. Ader, Stromalab, Toulouse). Le protéasome pourrait alors compléter les marqueurs moléculaires qui sont utilisés pour le contrôle des ADSCs.



Le fait marquant technologique :

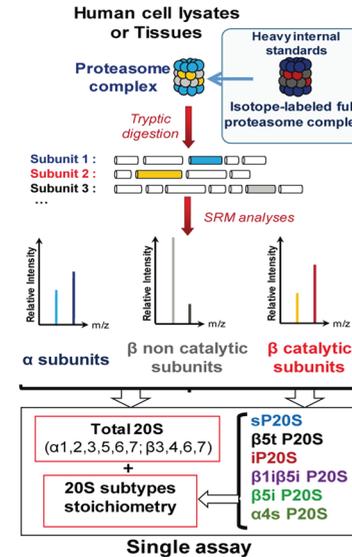
La protéomique ciblée pour une détection sensible et un dosage précis de protéines d'intérêt

La protéomique ciblée est une approche qui permet d'analyser de façon ciblée uniquement les espèces d'intérêt avec une grande sensibilité. Elle est basée sur l'utilisation de la spectrométrie de masse avec une méthode d'acquisition particulière (MRM, Multiple Reaction Monitoring, ou plus récemment PRM, Parallel Reaction Monitoring), qui offre l'avantage du multiplexage. Ainsi, plusieurs dizaines de protéines peuvent être suivies en une seule analyse. L'utilisation de standards internes marqués avec des isotopes lourds permet ensuite le dosage des espèces.



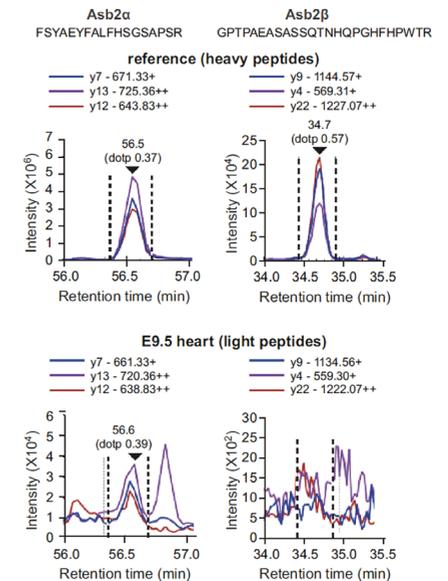
Dosage du protéasome : accès à la stoechiométrie et à la répartition des différentes formes du complexe

Nous avons développé une méthode multiplexée de dosage du cœur catalytique du protéasome grâce à l'utilisation du complexe entier marqué avec des isotopes lourds comme standard interne. Cette méthode nous a permis de déterminer la stoechiométrie des protéines constituant les complexes de protéasome et de doser précisément et individuellement toutes les formes des complexes (3).



Détection d'isoformes protéiques de faible abondance

Les isoformes α et β de l'E3 ubiquitine ligase ASB2 sont exprimées en faible abondance dans les cellules. De plus, leur détection par des anticorps n'est pas optimale. Nous avons développé une méthode MRM pour la détection des isoformes d'ASB2 pour étudier leur expression au cours du développement cardiaque chez la souris. Nous avons ainsi pu montrer que seule l'isoforme α est présente dans le cœur de souris à 9,5 jours. Le rôle crucial de cette isoforme a ensuite été étudié (4) (collaboration P. Lutz, IPBS, Toulouse).



PUBLICATIONS

1. Fabre et al. (2015). Deciphering preferential interactions within supramolecular protein complexes: the proteasome case. *Mol. Syst. Biol.*, 11, 771.
2. Jonik-Nowak et al. (2018). PIP30/FAM192A is a novel regulator of the nuclear proteasome activator PA28γ. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 115, E6477-E6486.
3. Menneteau et al. Mass spectrometry-based absolute quantification of 20S proteasome status for controlled ex-vivo expansion of Human Adipose-derived Mesenchymal Stromal/Stem Cells. *Mol. Cell. Proteomics*, in press.

PUBLICATION

4. Métais et al. (2018). Asb2 α -Filamin A Axis Is Essential for Actin Cytoskeleton Remodeling During Heart Development. *Circ. Res.*, 122, e34-e48.

Centre d'expertise en métabolomique & fluxomique

MetaToul est la Plateforme de Métabolomique et Fluxomique de Toulouse. Elle regroupe des compétences (chercheurs, ingénieurs, techniciens) et des technologies de pointe : Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et Spectrométrie de Masse (MS), dans le domaine de l'analyse globale du métabolisme. MetaToul met à disposition de la communauté scientifique les concepts, outils et méthodes liés à l'analyse du métabolisme à l'échelle d'un système biologique (cellule, tissu, organe, organisme).

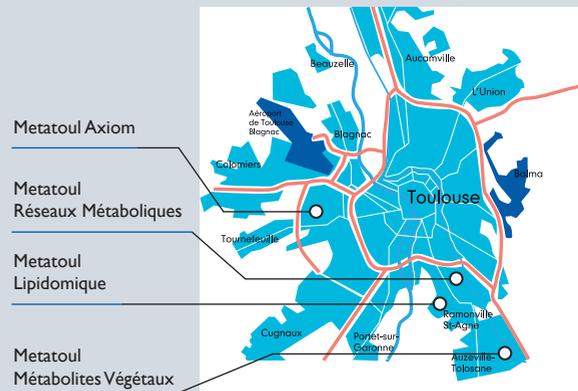
Elle regroupe 4 sites spécialisés :

- **Metatoul-Axiom** : développe et propose des méthodes de prise d'empreintes métabolomiques sans a priori (RMN, MS), une expertise en analyse statistique et bio-informatique des données, ainsi que l'analyse ciblée ou non de xénobiotiques et de leurs métabolites.
- **Metatoul-Lipidomique** : développe et propose des analyses qualitatives et quantitatives de différentes familles lipidiques par des approches ciblées ou globales.
- **Metatoul-Réseaux Métaboliques** : spécialisé dans l'analyse fonctionnelle des réseaux métaboliques, le plateau conçoit, développe et met à disposition des approches analytiques dans le domaine de la métabolomique, du profilage isotopique et de la fluxomique.
- **Metatoul-Métabolites Végétaux** : propose des analyses qualitatives et quantitatives de métabolites de plantes.

Ces approches utilisent des expertises fortes en chimie analytique (RMN, MS) mais aussi en statistiques et (bio)-informatique. Les développements méthodologiques réalisés par le personnel de la plateforme sont mis à la disposition de la communauté scientifique.

Metatoul est un acteur majeur de l'infrastructure nationale en Métabolomique MetaboHUB.

Localisation des équipements



Directeur scientifique :

Jean-Charles Portais

Co-directeurs :

Justine Bertrand-Michel,
Laurent Debrauwer

Contact :

<https://mama-webapp.metabohub.fr/>

Site web :

<https://www6.toulouse.inra.fr/metatoul>

Le fait marquant scientifique :

La caractérisation sans a priori des substances auxquelles nous sommes exposés

L'exposome se définit par l'ensemble des expositions subies par un organisme. Il est représenté par toutes les molécules d'origine humaine ou naturelle (xénobiotiques) qui peuvent être absorbées par un organisme. La plateforme Metatoul est l'un des tout premiers laboratoires à avoir développé et appliqué une méthode de caractérisation de cette exposition multiple à des xénobiotiques, afin de mieux évaluer *in fine* le risque que représente cet exposome sur la santé.

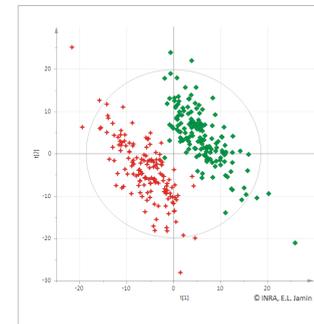


Fig.1 : Discrimination par oPLS-DA de 150 consommateurs d'aliments bio (vert) versus 150 consommateurs d'aliment non bio (rouge) en fonction de leur profil urinaire reflétant les marqueurs d'exposition et de consommation.

Les enjeux de sécurité sanitaire s'orientent de plus en plus vers l'étude des effets de mélanges complexes et l'émergence de nouveaux contaminants pose la question de leur caractérisation. Depuis 2011, la plateforme Metatoul développe des approches analytiques originales sans a priori permettant de caractériser cet exposome. La première valorisation de ces développements [1], fait partie des premiers articles analytiques dans ce domaine. Pionnier, Metatoul a poursuivi l'application de ces approches à 2 cohortes françaises (PELAGIE [2] et BIONUTRINET [3]). Par exemple, l'étude exposomique de la cohorte BIONUTRINET a permis de discriminer 2 populations de consommateurs bio et non bio en fonction de leur exposition aux pesticides et leurs régimes en fruits et légumes (Fig1). L'application de cette approche a également contribué à étudier l'effet d'un cocktail de pesticides sur la santé [4]. Cette expertise vaut à la plateforme Metatoul de participer à un programme européen consacré au biomonitoring humain (HBM4EU) en tant que co-leader d'un workpackage.

Les approches développées et appliquées en exposomique sont basées sur la combinaison d'approches permettant l'étude de métabolites de xénobiotiques (« Suspect Screening » Fig2) et de métabolites d'intérêt toxicologique (approche « Neutral Loss » Fig2). Enfin, l'analyse métabolomique (approche « Untargeted » Fig2) permet d'obtenir des informations sur les voies métaboliques perturbées par cet exposome et donc de faire le lien entre exposition et santé.

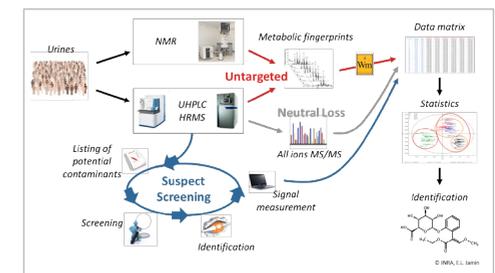


Fig.2 : Approches analytiques de caractérisation de l'exposome développées par la plateforme Metatoul

PUBLICATIONS

- [1] Jamin EL, Bonvallot N, Tremblay-Franco M, Cravedi JP, Chevrier C, Cordier S, Debrauwer L. Untargeted profiling of pesticide metabolites by LC-HRMS: an exposomics tool for human exposure evaluation. *Anal Bioanal Chem.* (2014) 406: 1149-61. doi: 10.1007/s00216-013-7136-2
- [2] Bonvallot N., Jamin E.M., Mercier F., Chevrier C., Cordier S., Cravedi J.-P., Debrauwer L., Martin J.-F., Le Bot B., Projet Multipest : Caractérisation des multi-expositions environnementales aux pesticides chez la femme enceinte, programme PNRPE 2013 (13-MRES-PNRPE-7-CVS-049) rapport final (2018)
- [3] Kesse-Guillot E., Projet BioNutrinet : Consommation d'aliments issus de l'agriculture biologique: déterminants et motivation vis-à-vis de la durabilité, impact nutritionnel, économique, environnemental et toxicologique, programme ANR 2013 (ANR-13-ALID-0001) rapport final (2018)
- [4] Lukowicz C., Ellero-Simatos S., Régnier M., Polizzi A., Lasserre F., Montagner A., Lippi Y., Jamin E.L., Martin J.-F., Naylies C., Canlet C., Debrauwer L., Bertrand-Michel J., Al Saati T., Théodorou V., Loiseau N., Mselli-Lakhal L., Guillou H., Gamet-Payrastré L. Effect of chronic dietary exposure to a pesticide cocktail at nontoxic doses on the development of metabolic diseases in mice, *Environ Health Perspect.* (2018) 126 doi: 10.1289/EHP2877

Le fait marquant technologique :

Acquisition de deux robots pour la préparation d'échantillons pour des analyses de métabolomique et lipidomique

Les plateaux de lipidomique et AXIOM de la plateforme MetaToul, respectivement adossés à l'IZMC (INSERM - UMR 1048) et Toxalim (INRA - UMR 1331), se sont dotés en 2018 de deux robots de préparation d'échantillons pour les analyses de lipidomique et de métabolomique globales. Les approches omiques à haut-débit (HT) permettent d'analyser à grande échelle le métabolisme ainsi que sa régulation. Parmi l'ensemble de ces approches, la lipidomique (analyse des lipides) et la métabolomique (analyse des petites molécules) visent à étudier les perturbations lipidiques et métaboliques à la suite d'une altération génétique, une pathologie, une exposition à un toxique ou toute autre cause environnementale. Cette approche utilise des techniques analytiques (spectrométrie de masse et résonance magnétique nucléaire) couplées à des analyses statistiques multivariées afin d'identifier de faibles changements métaboliques.



Le système multi-aiguilles permet de traiter 8 échantillons en parallèle



Le robot est un meuble indépendant relié à un système d'extraction de solvant

Ces analyses nécessitent généralement un grand nombre d'échantillons (plusieurs centaines d'échantillons par exemple pour l'étude de cohortes), afin d'obtenir une bonne puissance statistique. Dans le but d'augmenter sa capacité d'analyse, la plateforme a déjà réalisé l'acquisition d'instrumentation permettant d'automatiser l'acquisition des données analytiques sur les appareils de spectrométrie de masse et de RMN. La plateforme poursuit son effort avec l'automatisation de l'étape de préparation des échantillons, souvent la plus chronophage des workflows utilisés. Afin d'augmenter le débit et la robustesse des analyses, deux robots TECAN ont été acquis et vont permettre d'automatiser complètement la préparation des échantillons biologiques en vue de leur analyse en spectrométrie de masse et en RMN. Le dispositif est capable de traiter une gamme complète de portoirs d'échantillons (tubes RMN de diamètres 5 mm et 3 mm, flacons, plaques multipuits, vials, cryotubes...), ainsi que de réaliser différents types de manipulations comme la dilution, l'aliquotage, l'ajout de tampon et standard interne, l'extraction liquide-liquide, la purification des extraits sur cartouche, l'agitation

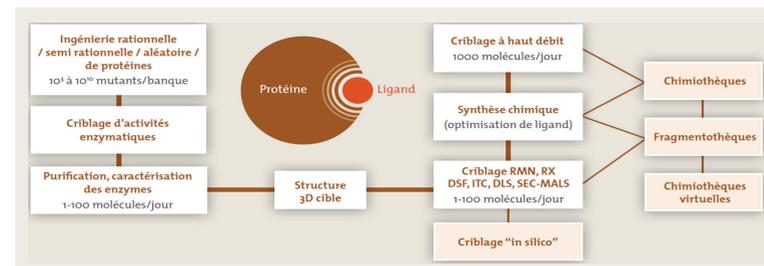
ou encore la centrifugation, tout ceci en assurant la traçabilité de l'ensemble des échantillons. Ces acquisitions réalisées dans le cadre du CPER dont bénéficie la plateforme Metatoul vont permettre de franchir un palier en matière de débit d'analyses métabolomiques et lipidomiques.



Le plateau multi-portoirs réfrigéré peut s'adapter à différents types de préparation

Du criblage au design moléculaire

La Plateforme Intégrée de Criblage de Toulouse (PICT) est une plateforme multi-sites dont l'activité s'articule autour (1) de l'identification et de la conception de ligands interagissant avec tout type de cibles, (2) de la découverte et de l'ingénierie d'enzymes et de la caractérisation fine des interactions cible-ligand. Cette activité repose sur des expertises et des équipements de pointe pour le criblage à haut débit de ligands ou d'enzymes, leur caractérisation structurale, l'analyse biophysique des interactions cible-ligand et la synthèse chimique de petites molécules.



Ces équipements et expertises se répartissent sur trois sites :

- l'Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS : biophysique, biologie structurale et bioinformatique) ;
- le Laboratoire de Synthèse et Physicochimie des Molécules d'Intérêt Biologique (LSPCMIB : chimie, synthèse, analyse et purification) ;
- le Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés (LISBP : découverte et optimisation d'enzyme).

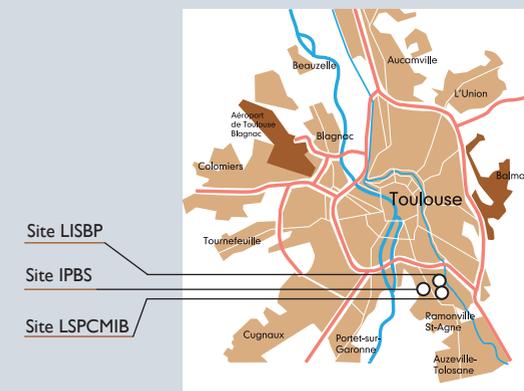
PICT occupe ainsi une position centrale dans le processus de développement de nouveaux médicaments, en aval de la découverte et de la validation d'une cible thérapeutique et en amont des études ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination, Toxicité) et de la pharmacologie clinique.

Responsables :
Laurent Maveyraud
Virginie Nahoum

Contact :
pict@ipbs.fr

Site web :
<http://cribligand.ipbs.fr/>

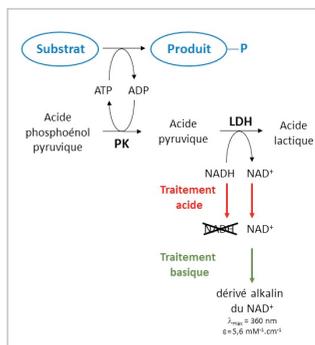
Localisation des équipements



Fait marquant scientifique :

Le criblage à façon pour la découverte d'enzymes originales

Le criblage et la découverte d'enzymes sont au cœur des activités de PICT-ICEO. La plateforme a pour mission de mettre à disposition de la communauté scientifique un ensemble d'expertises, de technologies permettant l'identification et la caractérisation d'enzymes provenant des biodiversités naturelles ou ingénierées. À ce titre, l'exploration à haut-débit de grandes bibliothèques d'enzymes implique le développement d'outils de criblage spécifiques, originaux et automatisés pour l'isolement de catalyseurs répondant aux critères recherchés. Ainsi, les kinases qui catalysent le transfert d'un groupe phosphoryle d'un d'ATP vers une molécule acceptrice sont des enzymes essentielles pour un grand nombre de fonctions métaboliques et de régulation dans tous les systèmes biologiques. Elles sont de plus en plus souvent au cœur de projets de biologie synthétique, car critiques pour le contrôle thermodynamique de voies métaboliques.



Dans le cadre du projet SYNTHACS (ANR / société Adisseo), l'ingénierie de kinases a constitué un défi majeur pour l'implémentation dans *E. coli* d'une voie métabolique synthétique dédiée à la production d'un métabolite non-naturel, le 2,4-dihydroxybutyrate (DHB), un précurseur de molécules à forte valeur ajoutée, notamment pour la nutrition animale. La construction de cette voie de synthèse non naturelle (1) visant la conversion du L-malate en DHB, a nécessité l'identification de trois activités catalysant en cascade cette transformation, et notamment une activité malate-kinase, première enzyme de la voie synthétique, qui n'avait jusqu'alors jamais été observée chez un organisme vivant. C'est par ingénierie que cette enzyme a dû être générée. Une analyse structurale s'appuyant sur des techniques de modélisation moléculaire a conduit à la construction, à partir de l'aspartate kinase LysC d'*E. coli*, d'une bibliothèque de 6 700 variants protéiques, criblée grâce à l'implémentation, la miniaturisation et l'automatisation d'un nouveau test haut-débit permettant d'évaluer l'activité de tout type d'enzymes utilisant de l'ATP (2). Pour cela, la formation concomitante d'ADP a été couplée à la production de NAD⁺ par l'action d'une pyruvate kinase et d'une lactate déshydrogénase. Un traitement acido/basique séquentiel permet ensuite la détection spécifique d'un dérivé chromogénique du NAD⁺. Grâce à cette méthode, une enzyme strictement spécifique de la phosphorylation du malate a été découverte et mise en œuvre pour la construction de la voie synthétique.

Cet exemple de développement d'un crible à façon illustre la puissance des techniques de criblage et d'ingénierie des protéines développées par PICT-ICEO, dans un environnement unique et engagé, pour l'acquisition de connaissances dans le domaine des relations structure-fonctions des enzymes et la génération d'enzymes construites à façon, pour de nombreux partenaires académiques et industriels.

Fait marquant scientifique :

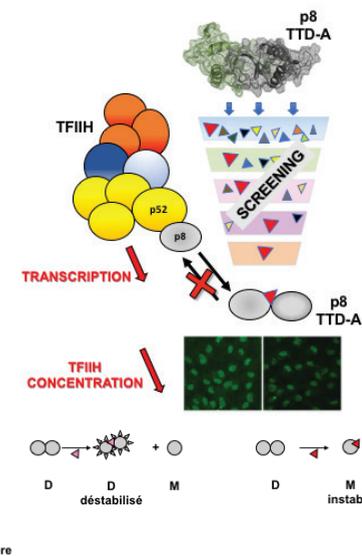
Identification de petites molécules ciblant l'interface de dimérisation de p8(TTD-A) pour moduler l'activité transcriptionnelle de TFIIH : une nouvelle stratégie anti-cancéreuse

Le facteur de transcription TFIIH est un gros complexe protéique essentiel dans l'initiation de la transcription par l'ARN polymérase II. Il est constitué de dix sous-unités qui forment un réseau d'interactions permettant une régulation fine des activités transcriptionnelles et de réparation de lésions d'ADN. Nous nous sommes intéressés à la petite sous-unité p8(TTD-A) responsable de la trichothiodystrophie (groupe A).

Cette protéine oscille entre une forme libre et une forme liée à TFIIH, et son recrutement par TFIIH joue un rôle clé dans le maintien de l'architecture de TFIIH et de sa stabilité. Dans un contexte où les cellules tumorales requièrent des niveaux de transcription élevés, nous avons cherché à identifier des petites molécules capables de déstabiliser p8 et d'empêcher sa liaison à TFIIH afin de moduler la stabilité et l'activité transcriptionnelle du facteur.

En utilisant une approche de criblage virtuel et expérimental (par RMN et DSF) de fragments, nous avons montré que le motif de dimérisation de p8 peut être ciblé par des petites molécules, entraînant une déstabilisation de la structure homo-dimérique de la sous-unité.

En collaboration avec l'équipe du Dr A. Giglia-Mari (Institut Neuromyogène, Lyon), nous avons observé que ces petites molécules qui ciblent et déstabilisent p8(TTD-A) sont responsables d'une baisse de la concentration et de l'activité transcriptionnelle de TFIIH. Notre étude révèle que la sous-unité p8(TTD-A) peut être considérée comme une nouvelle cible pharmacologique afin de moduler l'activité transcriptionnelle associée à TFIIH, constituant ainsi une approche intéressante pour des développements futurs en thérapie anticancéreuse.



PUBLICATIONS

- (1) Walther et al (2017) Construction of a synthetic metabolic pathway for biosynthesis of the non-natural methionine precursor 2,4-dihydroxybutyric acid. *Nat Commun.*, 8:15828.
- (2) Irague et al (2018) A generic HTS assay for kinase screening: validation for the isolation of an engineered malate kinase. *PLoS One*. Feb 20; 13(2):e0193036.

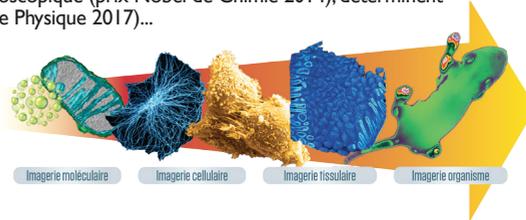
PUBLICATION

- Gervais et al., Targeting dimerization of TTD-A using small molecules and modulating basal transcription activity of TFIIH: a novel strategy in anticancer therapy. *J. Biol. Chem.*, 2018

Observer c'est connaître, mesurer c'est comprendre

L'imagerie du vivant connaît un essor considérable issu de la synergie des compétences des biologistes, mathématiciens, informaticiens, physiciens et chimistes. Sans cesse, de nouveaux équipements et de nouvelles méthodes apparaissent, permettant d'observer les fonctions du vivant en trois dimensions, en temps réel, en profondeur, de la molécule unique à l'organisme entier. Les chercheurs suivent le trafic ou les interactions de protéines d'intérêt (prix Nobel de Chimie en 2008), localisent des molécules à une résolution nanoscopique (prix Nobel de Chimie 2014), déterminent la structure atomique de macromolécule (prix Nobel de Physique 2017)...

Le champ d'application de l'imagerie est immense. Il concerne l'ensemble du monde animal et végétal, depuis les microorganismes jusqu'à l'homme, ainsi que l'ensemble des processus qui régissent le vivant, depuis les plus jeunes stades du développement de l'individu jusqu'à la sénescence, en situation normale ou pathologique. Genotoul TRI couvre les champs de compétences suivants :



3 champs de compétences

- Microscopie photonique
- Microscopie électronique
- Cytométrie et tri cellulaire

Nos formations d'expertise

La biologie animale : depuis la bactérie et la levure jusqu'à l'homme.
La biologie végétale : plantes, champignons et bactéries.

Localisation

La plateforme s'est enrichie d'un nouveau plateau présent sur le laboratoire StromaLab et fédère maintenant 9 sites de recherche toulousains. Elle accueille actuellement 800 chercheurs et étudiants appartenant à 180 équipes de recherche, dont plus de 17 laboratoires privés.

Nos technologies

42 personnels dédiés qui mettent en œuvre compétences et expertises sur des technologies de très haut niveau couvrant :

- L'imagerie cellulaire & tissulaire in-vivo
- La microscopie à super-résolution
- La cytométrie, l'imagerie moyen & haut débit
- La microscopie électronique à transmission et à balayage
- Les cryométhodes
- La microscopie à force atomique
- L'imagerie des interactions moléculaires
- L'imagerie du petit animal
- Le traitement & la modélisation

Actu : Journée Highlight

Le 4 décembre 2018 la plateforme a organisé « Les avancées en imagerie du vivant en Occitanie » au Muséum d'histoire naturelle de Toulouse. Exemples concrets et faits marquants 2018 présentés par des scientifiques de l'ensemble de la communauté ont permis d'illustrer l'excellence de la production scientifique de nos laboratoires. Cette journée qui a eu le succès escompté, deviendra un événement récurrent de la plateforme TRI.

Responsable scientifique :
Olivier Gadal

Responsable opérationnel :
Jacques Rouquette

Contact :
tricontact@genotoul.fr

Site web :
http://trigenotoul.com

Localisation des équipements

- SFR BMT Purpan (CPTP)
- SFR BMT Rangueil (I2MC)
- SFR BMT Langlade (ITAV et StromaLab)
- FRBT Sites IPBS et CBI
- FR Agrobiosciences

Fait marquant scientifique :

Proche de l'état natif : association de la cryofixation haute pression au cryo-microscope électronique à balayage pour l'observation du tissu cardiaque et d'une matrice d'hydroxyméthylcellulose

La microscopie électronique à balayage permet la visualisation de la surface d'échantillons mous à l'échelle du nanomètre. Afin de préserver les échantillons au plus près de leur état natif les techniques de cryo-préparation se développent de plus en plus aux dépens des techniques de préparation des échantillons plus traditionnelles qui utilisent des fixateurs chimiques, la déshydratation à l'alcool et la dessiccation.

Cependant, la cryofixation d'échantillons hydratés doit respecter des paramètres de vitesse de congélation afin d'éviter la formation de cristaux d'eau qui peuvent modifier l'ultrastructure des échantillons. Ainsi la cryofixation haute pression qui congèle l'échantillon par un jet d'azote liquide à 2050 bars en 5 msecondes permet d'obtenir une glace amorphe et donc une parfaite préservation de l'ultrastructure de l'échantillon.

Le passage de l'échantillon du système de cryofixation à haute pression au microscope électronique à balayage nous a demandé la mise en place d'un support (1). Notre étude a donc porté sur le design, la réalisation et sur les tests de fonctionnalité de ce support. Nous avons appliqué ce système à l'étude de la dispersion de l'acide stéarique dans une matrice d'hydroxyméthylcellulose et pour une étude de l'ultrastructure de cellules cardiaques de souris (2). Les résultats très prometteurs de ces travaux et la facilité d'utilisation de notre système nous amèneront à appliquer cette technique dans de nombreux domaines dont la chimie et la biologie et ouvriront vers de nouvelles observations qu'il est impossible de réaliser autrement.

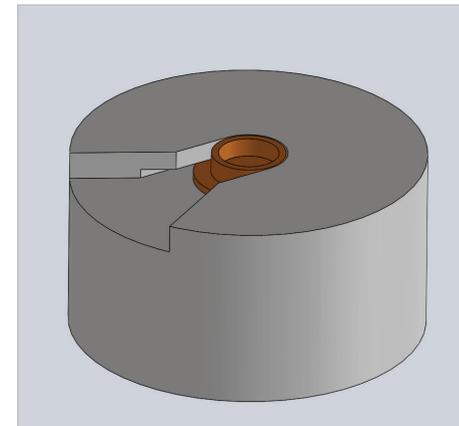


Fig. 1 - Schéma de la cupule du cryofixateur haute pression insérée dans le module de transfert pour la platine cryo du microscope électronique à balayage (MEB Quanta 250 FEG).

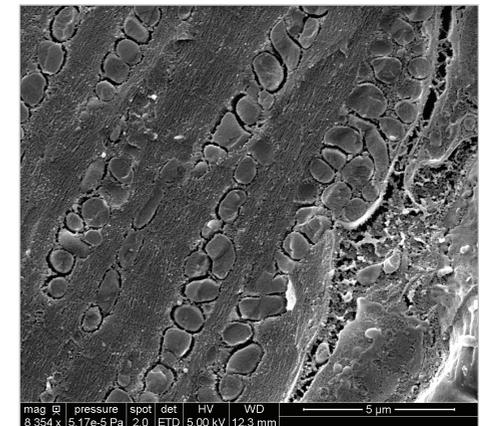


Fig. 2 - Cœur de souris, ultrastructure du ventricule gauche observé au MEB Quanta 250 en mode cryo à -130°C après cryofixation haute pression, cryofracture et métallisation au platine.

PUBLICATION

- Payre B, Gontier E, Jarray A, Martinez Y, Laugier JP, Delalleu A, Gaillard BM, Anselme I, Goudouneche D, Fourquaux I, Hemati M, Gerbaud V, Delisle MB, Guilbeau-Frugier C (2018). A new HPF specimen carrier adapter for the use of high-pressure freezing with cryoscanning electron microscope: two applications: stearic acid organization in a hydroxypropyl methylcellulose matrix and mice myocardium. *Journal of Microscopy*. 271 (3):255-265.

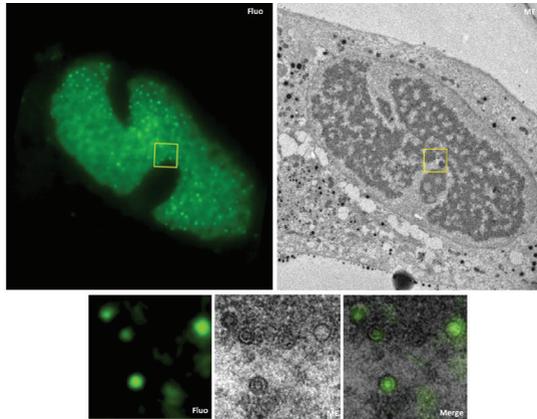
Fait marquant scientifique :

La microscopie corrélative ou comment observer un même échantillon à différentes échelles

La microscopie corrélative, aussi appelée CLEM (Correlative Light and Electron Microscopy) permet de fusionner les informations obtenues par différentes modalités d'imagerie sur un même échantillon. La CLEM permet de replacer une fonction moléculaire observée en microscopie de fluorescence dans son contexte ultrastructural en microscopie électronique. Elle est notamment utilisée pour repérer en fluorescence un évènement rare dans une cellule ou dans une population de cellules et le caractériser ensuite par microscopie électronique.

Des chercheurs du Centre de Biologie Intégrative et de la société NeoVirTech ont pu mettre à profit cette technique développée sur la plateforme METi pour étudier le cycle de réplication de virus. L'objectif était de visualiser l'ultrastructure de virus dont l'ADN fixe des protéines associées à des protéines fluorescentes dans des cellules infectées.

La superposition des images de fluorescence et de microscopie électronique a permis de vérifier que les spots fluorescents détectés dans les cellules correspondaient bien à des particules virales uniques. La microscopie électronique a également révélé plusieurs formes de capsides virales correspondant à différents états de maturation. De plus, ces types de capsides présentent des niveaux de signal en fluorescence différents. En effet, il a été observé une fluorescence plus faible dans les capsides contenant du matériel, suggérant ainsi qu'elles contiennent un seul génome viral. De manière inattendue, les capsides vides présentent un niveau de fluorescence plus fort, laissant penser qu'elles sont associées à une structure contenant plusieurs génomes viraux.



La microscopie corrélative permet donc de combler le fossé entre la microscopie photonique et la microscopie électronique tout en conservant les avantages des deux techniques. Cette approche ouvre de nouvelles perspectives d'étude, avec notamment l'émergence de la microscopie corrélative en super résolution (SR-CLEM) que nous développons actuellement.

PUBLICATION

- Mariamé B, Kappler-Gratias S, Kappler M, Balor S, Gallardo F, Bystricky K. 2018. Real-time visualization and quantification of human cytomegalovirus replication in living cells using the ANCHOR DNA labeling technology. J Virol 92:e00571-18.

Explorer les pathophysiologies in vivo

La compréhension du vivant et des dysfonctionnements physiologiques qui peuvent conduire à des pathologies, un enjeu majeur en santé publique, repose sur le développement de modèles animaux adaptés et d'équipement permettant une exploration fonctionnelle précise in vivo. Au cours de ces dernières années, la plateforme Anexplo a participé au développement de nouvelles stratégies innovantes pour le développement d'animaux génétiquement modifiés et a contribué à la mise en place d'équipements de pointe permettant l'exploration fonctionnelle non-invasive d'animaux et l'expérimentation dans des environnements de niveaux de sécurité 1, 2 et 3.

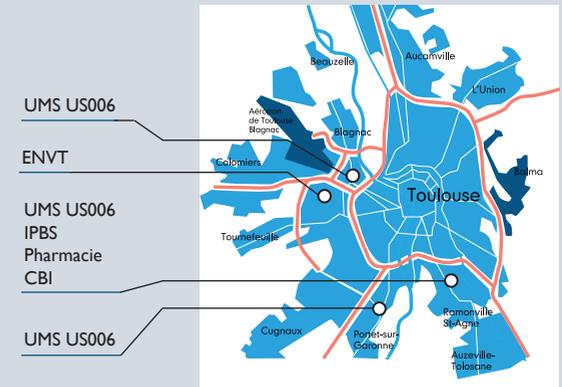
Recherche et développement :

- Le nouveau plateau d'étude de comportement chez la souris du Centre de Biologie Intégrative a développé un ensemble de tests permettant de caractériser le comportement basal (activité motrice, force musculaire, coordination, fatigue) et d'analyser les fonctions cognitives (attention, mémoire spatiale et contextuelle, apprentissage).
- La composition de la flore commensale est déterminante dans le développement de nombreuses pathologies telles que l'obésité ou le cancer et conditionne la réponse thérapeutique. Le développement d'une médecine du futur personnalisée doit donc intégrer les variations de la flore commensale des patients. Pour répondre à ce besoin, l'US006 a développé un nouveau plateau permettant de stabuler des souris axéniques et gnotobiotiques, adossé à un plateau de chirurgie expérimentale.

Équipement et aménagement des zones de stabulation et d'expérimentation :

- La compréhension des interactions hôtes/pathogènes dans des modèles intégrés est un enjeu majeur, nécessaire au développement de nouveaux traitements des maladies infectieuses émergentes ou ré-émergentes. Pour permettre le développement de ces thématiques, les zones de confinement et d'expérimentation de niveau de sécurité 2 et 3 pour des souris, rats, ovins et bovins ont été développées dans les différents sites d'expérimentation animale rattachés à Anexplo. Outre la possibilité de stabuler des animaux en milieu confiné et protégé, ces zones intègrent des équipements permettant une expérimentation directe sur les animaux (IPBS : trieur de cellules et microscope confocal/biphoton en niveau ABSL3, CPTP : IVIS permettant l'analyse de bioluminescence et fluorescence in vivo sur animaux vigiles et CBI : un laboratoire d'étude comportementale).
- Le suivi clinique de modèles animaux de différentes pathologies est essentiel à la compréhension de ces pathologies. Pour répondre à ce besoin les plateaux techniques de l'US006 ont acquis des équipements permettant une analyse non-invasive par doppler, échographie et IRM7/SRM Tesla qui complètent les SPECT/CT et TEP/CT pour l'imagerie multimodale non-invasive du petit animal.

Localisation des équipements



Responsables scientifiques :
Sylvie Guerder, Olivier Neyrolles,
Eric Oswald

Responsables opérationnels de site :

Massimiliano Bardotti, Perrine Bonneville, Daniel Cussac, Magali Jacquier, François Schelcher, Pascal Roulet

Contact :
anexplo@genotoul.fr

Site web :
<http://anexplo.genotoul.fr/>

Fait marquant scientifique :

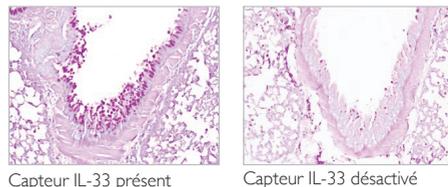
Comment les allergènes de notre environnement déclenchent les réactions allergiques



Les allergies, quelques chiffres clés.

Les maladies allergiques telles que l'asthme, la rhinite allergique et l'eczéma sont des maladies fréquentes qui touchent de nombreux patients de l'enfance à l'âge adulte. D'après les estimations de l'OMS, il y a actuellement 235 millions de personnes qui souffrent d'asthme dans le monde. L'asthme allergique est lié à l'inhalation d'allergènes présents dans notre environnement (moisissures, pollens, acariens...). Mais comment ces allergènes déclenchent-ils les réactions allergiques ? Corinne Cayrol, chercheur CNRS, Anaïs Duval, post-doctorante, et Jean-Philippe Girard, chercheur Inserm à l'Institut de pharmacologie et de biologie structurale (IPBS - CNRS/Université Toulouse III) apportent un éclairage nouveau sur cette importante question. Ils ont identifié une protéine, l'interleukine-33 (IL-33) qui fonctionne comme un détecteur (capteur) des allergènes présents dans les voies respiratoires. L'IL-33 est découpée en morceaux par des enzymes (protéases) produites par une grande variété d'allergènes.

Elle devient alors hyperactive et déclenche une cascade d'événements conduisant aux réactions allergiques. Il s'agit d'un mécanisme général de déclenchement des réactions allergiques puisque l'IL-33 peut détecter de nombreux allergènes différents, des allergènes présents dans l'air ambiant (pollens, spores) mais également des allergènes impliqués dans l'asthme professionnel. Cette découverte d'un mécanisme direct de détection des allergènes de l'environnement par l'IL-33 ouvre des perspectives thérapeutiques prometteuses pour le traitement de l'asthme et des autres maladies allergiques. Empêcher la production des fragments hyperactifs de l'IL-33 après une exposition aux allergènes pourrait, par exemple, permettre de limiter les réactions allergiques sévères chez les patients asthmatiques. Ces travaux financés par l'Agence nationale pour la recherche (ANR) se sont appuyés sur la plateforme ANEXPLO de l'IPBS.



© Corinne Cayrol et Jean-Philippe Girard / IPBS / CNRS - Université Toulouse III - Paul Sabatier

Légende :
Production de mucus dans le poumon après inhalation d'un allergène (coupes de poumon, coloration du mucus en rose magenta). L'hyperproduction de mucus est l'une des caractéristiques de l'asthme allergique. La protéine IL-33, un facteur majeur de prédisposition à l'asthme chez l'homme, détecte l'activité protéasée de l'allergène. Elle s'en trouve activée et déclenche une cascade de réactions, dont la production de mucus, associées à l'asthme et aux autres maladies allergiques. Lorsque l'activation de l'IL-33 est bloquée (à droite), la réaction n'est pas déclenchée.

Fait marquant scientifique :

Analyse des effets d'une protéine virale sur le comportement animal

Certains virus neurotropes, comme le bornavirus, provoquent des troubles comportementaux chez de nombreuses espèces animales. Afin de mieux comprendre comment ces virus induisent des dysfonctionnements neuronaux Alexandre Bétourné, Marion Szelechowski, Claire Rampon et Daniel Gonzales-Dunia et leurs collaborateurs, chercheurs au CPTP (Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan) et au CRCA (Centre de Recherches sur la Cognition Animale) ont étudié l'impact de l'expression d'une protéine virale dans l'hippocampe, une région cérébrale impliquée dans la mémoire, sur le comportement de souris. Ils ont utilisé une protéine isolée du Bornavirus, un virus neurotrope connu pour provoquer des troubles comportementaux chez de nombreuses espèces animales. Il a très récemment été démontré que le Bornavirus pouvait également persister chez l'homme, ce qui a renforcé leurs motivations pour mieux appréhender l'origine des troubles comportementaux liés à sa persistance dans le système nerveux central.

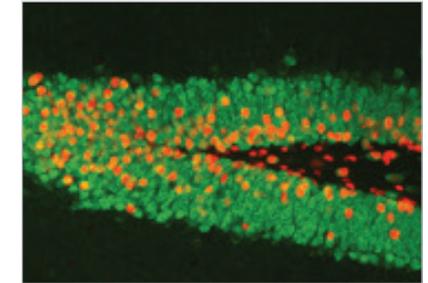


Fig. 1 : Expression ciblée de la protéine virale P (en rouge) du Bornavirus dans l'hippocampe de souris. Les neurones de cette région de l'hippocampe sont visualisés en vert. Photographie réalisée au plateau d'imagerie cellulaire du CPTP.

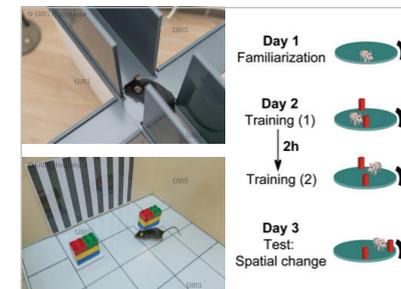


Fig. 2 : Analyses comportementales chez la souris, réalisées dans le service comportemental du CRCA de la plateforme Anexplo. En haut à gauche, labyrinthe en croix surélevé, permettant de tester l'anxiété. En bas à gauche, protocole de localisation d'objets pour évaluer la mémoire spatiale des souris.

© C. FRESSILLON/CRCA/Photothèque CNRS

Ils ont utilisé la phosphoprotéine (P) du Bornavirus, qui interfère avec la voie de la protéine kinase C (PKC) et perturbe la plasticité neuronale. L'expression ciblée de cette protéine P dans l'hippocampe, une région clé pour la mémoire (Figure 1), induit chez la souris, une anxiété chronique et des troubles mnésiques, révélés notamment par les tests du labyrinthe en croix surélevé et de localisation d'objets (Figure 2). De façon intéressante, l'expression d'une protéine P mutée et donc incapable d'interférer avec la voie de la PKC, conduit à l'absence de la majorité, mais non de la totalité, des déficits cognitifs induits par la protéine P. Ceci suggère que l'action de la protéine P du Bornavirus n'est pas strictement restreinte à la voie de signalisation de la PKC. Ainsi, ces résultats apportent un nouvel éclairage sur les mécanismes moléculaires cérébraux impliqués dans le développement de perturbations cognitives induites par certaines infections virales. Cette étude accroît également notre compréhension du rôle et de l'importance des voies de signalisation dépendantes de la PKC, dont des altérations sont impliquées dans de nombreuses maladies neurologiques.

Un centre de ressources à disposition de la recherche

La plateforme **CRBh**, centre de ressources biologiques humaines, regroupe les 3 CRB mis en œuvre par le CHU de Toulouse : **Toulouse Bio-Ressources**, **CRB-Cancer**, **Germethèque**. La mission des CRB est la préparation, le conditionnement, la conservation et la mise à disposition des ressources biologiques humaines organisées en collections thématiques, pour une utilisation en recherche scientifique. Les ressources biologiques ont deux origines : 1°) les protocoles de recherche biomédicale, et 2°) la filière de soins, où les prélèvements destinés à l'analyse médicale peuvent être secondairement requalifiés pour la recherche. Les CRB opèrent selon un référentiel qualité spécifique (norme NF S96-900), assurant une stricte conformité réglementaire, la qualité et la gestion informatisée des ressources et données associées. Les spécificités des 3 CRB constitutifs de la plateforme CRBh sont présentées ci-dessous.

- **Toulouse Bio-Ressources (CRB – TBR)** est multithématique, comportant 40 collections déclarées, développées autour de 3 axes majeurs : 1°) le **vieillessement**, cognitif, neurologique, cardiovasculaire, ostéoarticulaire et métabolique; 2°) les **maladies du développement** et de l'enfant; 3°) les **pathologies infectieuses**. Le CRB assure la préparation et la gestion d'une grande variété d'échantillons biologiques : sang et dérivés, ADN génomique, liquide céphalo-rachidien, urines, fèces, biopsies tissulaires, cellules en culture.
- Le **CRB-Cancer** est dédié à la pathologie tumorale et est situé à l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse — Oncopole (IUCT-O). Le CRB-Cancer dispose de **prélèvements tumoraux et non tumoraux associés à la tumeur** rassemblés en 12 collections (lymphomes, mélanomes, tumeurs cérébrales, tumeurs colorectales, du sein, urologiques, gynécologiques, tumeurs pulmonaires, ORL, tumeurs neuroendocrines, tumeurs des tissus mous, tumeurs osseuses). Il dispose d'une **plateforme d'histopathologie** dédiée à la recherche et développe des techniques d'immuno-histochimie, d'hybridation in situ et de « Tissue MicroArray ».
- **Germethèque**, comporte 11 sites répartis sur la France entière travaillant en réseau. Les ressources biologiques concernent les thématiques de la **fertilité**, de la **procréation** et du **développement humain**. Parmi les ressources spécifiques figurent ovocytes, spermatozoïdes, liquide folliculaire, plasma séminal, tissus germinaux, milieux de culture issus des embryons.

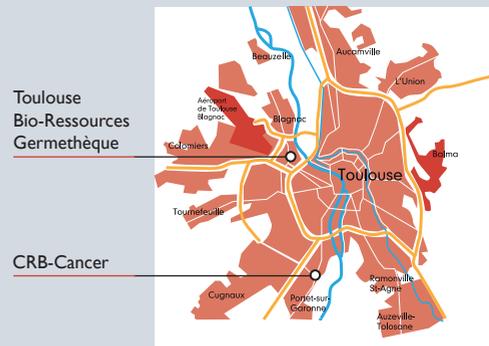
Responsable médical :
Bertrand Perret

Responsable opérationnel :
Bénédicte Razat

Contact :
perret.b@chu-toulouse.fr

Site web :
<http://www.chu-toulouse.fr/-centre-de-ressources-biologiques-toulouse-bio->

Localisation des équipements



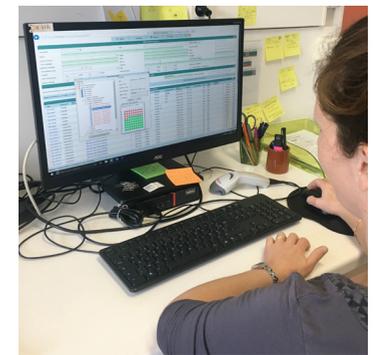
Évolution des organisations et missions

En 2018, le CRB Toulouse Bio-Ressources (TBR) a connu plusieurs évolutions majeures accompagnant l'augmentation de son activité :

- Extension du périmètre de certification du CRB-TBR (NF S96-900) vers la gestion centralisée des ressources biologiques dans le cadre de protocoles de recherche multicentriques, de dimension nationale ou internationale. Cette évolution conforte le rôle du CRB-TBR comme « central lab » dans de grands essais cliniques.



Préparation des ressources biologiques



Gestion informatisée des ressources et des données

- Développement de l'interface entre le CRB-TBR et les plateaux analytiques du laboratoire de biologie médicale du CHU de Toulouse ; habilitation des techniciens du CRB à la réalisation d'analyses spécialisées, notamment de biomarqueurs nutritionnels comme les acides gras.



- Déménagement dans des locaux dédiés, laboratoires et espaces de stockage, au pavillon Lefebvre, sur le site de Purpan.

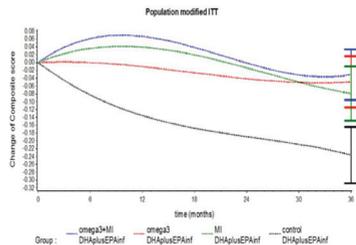
Le fait marquant scientifique :

Taux bas d'acides gras omega-3 érythrocytaires et fonctions cognitives : données de l'étude MAPT

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que l'alimentation, l'exercice physique, l'exercice cognitif et le maintien des activités sociales jouent un rôle significatif dans le maintien des facultés intellectuelles. Les approches multidomaines, qui encouragent les individus à adopter des comportements bénéfiques pour les fonctions cognitives, sont des pistes prometteuses.

Dans ce contexte, le Gérotopôle du CHU de Toulouse a initié l'étude MAPT (Multidomain Alzheimer Preventive Trial) dont l'objectif est de déterminer si la mise en place de mesures préventives peut protéger contre le déclin des performances cognitives (clinicaltrials.gov NCT00672685). Au total, 1680 personnes âgées (≥ 70 ans), en situation de fragilité et vivant au domicile, ont été recrutées et suivies durant 3 ans dans 13 centres en France. Les mesures préventives testées étaient : 1/ la prise quotidienne d'un traitement à base d'acides gras oméga-3 (DHA+EPA); 2/ la pratique d'exercices physiques et cognitifs associés à des recommandations nutritionnelles (« intervention multi domaines ») ou 3/ l'association des deux mesures précédentes. Une collection biologique a été constituée, adossée à cette cohorte multicentrique. Les résultats de l'étude ont montré une observance satisfaisante à la fois pour l'intervention multidomaines (71 %) et pour la prise du traitement Omega-3 ou Placébo (84 %). L'analyse des données du protocole a montré que le déclin cognitif était significativement moins important dans le groupe « intervention multidomaines plus omega-3 » que dans le groupe placebo. Cet effet était encore plus marqué dans le sous-groupe de sujets ayant un déclin cognitif léger et des taux bas d'acides gras oméga-3 (DHA+EPA) érythrocytaires, qui sont un reflet de l'apport nutritionnel de ces molécules (Figure 1). Les concentrations de DHA et d'EPA érythrocytaires étaient significativement plus élevées dans les deux groupes de sujets supplémentés (augmentation moyenne de 3,5 % [SE 0,11] et de 3,29 % [SE 0,11] dans le groupe MI plus oméga-3 et dans le groupe oméga-3 seuls, respectivement) que dans les deux groupes recevant le placebo ($p < 0,0001$) [1]. Au sein du groupe placebo (n=362), les performances cognitives des sujets présentant initialement les taux les plus bas d'acides gras omega-3 (quartile inférieur) ont décliné significativement de 0,24 point au score cognitif composite à 3 ans, alors que les performances des sujets présentant les concentrations les plus élevées sont restées stables à 3 ans. Une valeur seuil de 5,3 % pour l'index des acides gras omega-3 érythrocytaires était le seuil optimal prédictif d'un déclin cognitif significatif à 3 ans [2]. Ainsi le dosage des acides gras érythrocytaires au sein d'une grande cohorte a permis de documenter l'intérêt des stratégies de prévention (nutrition, activité physique, stimulation cognitive) vis-à-vis des pathologies neuro-dégénératives.

Fig. 1 : Évolution des fonctions cognitives à 3 ans chez les sujets présentant initialement des taux bas d'acides gras érythrocytaires oméga 3 (DHAplusEPA inf). MI : intervention multi domaines; oméga3 : supplémentation en acides gras oméga-3.



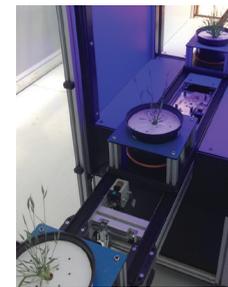
PUBLICATIONS

- [1] Andrieu S, Guyonnet S, Coley N, Cantet C, Bonnefoy M, Bordes S, Bories L, Cuffi MN, Dantoine T, Dartigues JF, Desclaux F, Gabelle A, Gasnier Y, Pesce A, Sudres K, Touchon J, Robert P, Rouaud O, Legrand P, Payoux P, Caubere JP, Weiner MV, Carrié I, Ousset PJ, Vellas B for the MAPT study group. Effect of 3 years n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation and/or multidomain intervention on cognitive function in older adults with memory complaints (the MAPT Trial) : a randomised placebo controlled trial. *Lancet Neurol.* 2017; 16 (5) : 377–389.
- [2] Coley N, Raman R, Donohue MC, Aisen PS, Vellas B, Andrieu S. Defining the Optimal Target Population for Trials of Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation Using the Erythrocyte Omega-3 Index: A Step Towards Personalized Prevention of Cognitive Decline? *J Nutr Health Aging.* 2018; 22 (8):982–998.

Phénotypage végétal dédié à l'analyse des plantes dans leur environnement biotique et abiotique



La plateforme met à disposition une infrastructure performante dédiée à l'analyse des plantes dont :



1 Un robot végétal ou « phénoserre » permettant le contrôle automatisé de la croissance et le phénotypage d'environ 350 plantes cultivées dans un conteneur 3 L. L'imagerie est réalisée en modes fluorescents, RGB et NIR.



2 Un robot végétal ou « phénopsis » capable de contrôler automatiquement la croissance d'environ 500 petites plantes et qui peut également enregistrer les images des plantes par caméras multispectrales et à fluorescence de chlorophylle.

3 Un robot de phénotypage Omnilog capable d'analyser automatiquement jusqu'à 500 propriétés cataboliques individuelles de microbes cultivées dans des plaques à 96 puits.

TPMP a obtenu en 2017 un financement PLant2Pro / Institut Carnot permettant le recrutement d'un spécialiste en analyse d'imagerie et de signal (Projet PhenOr, Stephane Munos-LIPM, Nemo Peeters-LIPM-TPMP, Christophe Jestin-Terres Inovia).

Responsable scientifique :

Nemo Peeters

Contact :

tpmp@inra.fr

Site web :

http://tpmp.inra.fr



@Inra_TPMP

Localisation des équipements



TPMP

Le fait marquant scientifique :

Premier gène de résistance de la tomate au flétrissement bactérien

La plateforme TPMP vient de participer à la caractérisation du premier gène de résistance de la tomate permettant à celle-ci de résister à la bactérie responsable du flétrissement bactérien. Cette étude a été initiée par l'équipe de Greg Martin de l'institut BTI à l'université de Cornell, NY, USA.

Ptr I, un gène de résistance provenant d'un cousin de la tomate cultivée, permet la résistance à la maladie dite de la « moucheture bactérienne »

Les auteurs de cette étude ont étudié la descendance de croisements entre la tomate aux fruits noirs (*Lycopersicon lycopersicoides*) et la tomate cultivée (*L. esculentum*) et ont remarqué que certaines plantes restaient indemnes après la survenue de la maladie de mouchetures bactériennes (causée par la bactérie *Pseudomonas syringae*, pv tomato). Après avoir décrit cette résistance les auteurs ont isolé le gène responsable et se sont demandés s'il pouvait procurer une résistance à d'autres maladies bactériennes.

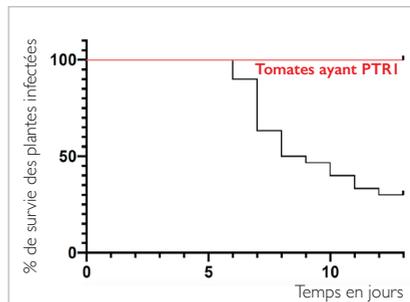


Progression de la maladie mesurée par analyse d'images



Les tomates portant le gène **Ptr I** sont protégées du flétrissement bactérien

La plateforme TPMP possède un agrément quarantaine et les compétences pour phénotyper la maladie du flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum*. Après inoculation bactérienne, phénotypage et analyse des images, des lignées de tomates diffèrent seulement par la présence du gène **Ptr I**. Nous avons pu montrer que la présence de ce gène rendait les plants de tomate complètement résistants à la maladie. Malgré les infections avec des doses bactériennes importantes, nous n'avons jamais détecté de maladie sur ces plants.



PUBLICATION

- Mazo-Molina, C., S. Mainiero, S. R. Hind, C. M. Kraus, M. Vachev, F. Maviane-Macia, M. Lindeberg, S. Sah a, S. Strickler, A. Feder, J. Giovannoni, C. Smart, N. Peeters and G. Martin (2019). "The *Ptr I* locus of *Solanum lycopersicoides* confers resistance to race I strains of *Pseudomonas syringae* pv. tomato and to *Ralstonia pseudosolanacearum* by recognizing the type III effectors *AvrRpt2/RipBN*." *Mol Plant Microbe Interact.* In press.

Expertise sur les enjeux éthiques, légaux et sociétaux associés aux biosciences

La **Plateforme Éthique et Biosciences, (Genotoul Societal)** espace de réflexion et d'échanges, rassemble une équipe pluridisciplinaire afin de vous apporter son expertise sur les aspects éthiques, légaux et sociétaux associés aux biosciences. Celle-ci s'adresse à la fois aux différents acteurs professionnels du domaine et au grand public, au travers d'activités complémentaires :

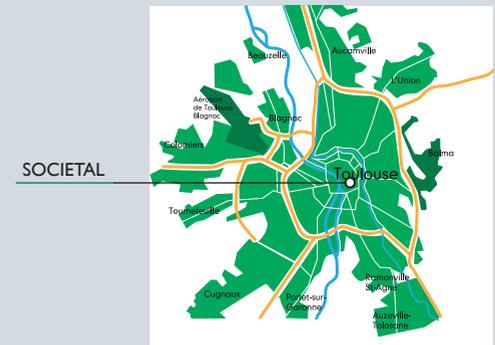


- **Prestations de services** à destination des professionnels et des institutions en lien avec le domaine des biosciences ;
- **Formations** des doctorants et des professionnels sur les aspects éthiques et sociétaux de la recherche scientifique ;
- **Animations** d'évènements de réflexion et d'échanges autour des enjeux associés à la génomique et aux biotechnologies ;
- **Publications** et veille sur les enjeux éthiques, légaux et sociétaux associés aux biosciences.

En 2018, l'équipe a répondu à **16 demandes** d'accompagnement de projets de recherche nationaux et européens dans le cadre de financements de type ERC, H2020.

Pascal Ducournau, Membre de la Plateforme, est l'auteur de **l'ouvrage « S'entreprendre avec ses gènes. Enquête sur l'auto-généritation »** (ISBN: 978-2-7535-7397-0) financé par la Plateforme.

Localisation de la plateforme



Responsable scientifique :
Emmanuelle Rial-Sebbag

Co-responsable :
Gauthier Chassang

Coordinatrice :
Lucie Serres

Contact :
societal@genotoul.fr

Site web :
http://societal.genotoul.fr

Animation scientifique

EuroScience Open Forum

2018 fut marquée par l'EuroScience Open Forum (ESOF). Toulouse, Cité Européenne de la Science du 9 au 14 juillet, accueillait la 8^e édition de la plus grande manifestation scientifique interdisciplinaire d'Europe, ayant permis de réunir 4000 participants du monde entier, de disciplines et de domaines variés.

Anne Cambon-Thomsen, Fondatrice de la Plateforme Génotoul Societal et Championne ESOF 2018 a porté la candidature de la ville, dès 2013, avec brio.



En complément du programme scientifique destiné aux professionnels de la recherche et de l'innovation, le Festival Science in the City s'est tourné vers le grand public afin de « partager la science vers de nouveaux horizons » comme indiqué par la devise d'ESOF 2018. La Plateforme a pris part à ce Festival en proposant un Forum Citoyen intitulé : « Enjeux éthiques de la médecine génomique », le 10 juillet au Quai des Savoirs.



Qu'est-ce que le séquençage du génome ? Comment intervient-il dans la pratique médicale ? Quels enjeux éthiques émergent aujourd'hui avec le séquençage à grande échelle ?

Grâce à un dispositif interactif, les participants ont pu tester en direct leurs connaissances dans le domaine et donner leurs avis sur les questions soulevées par les différents intervenants.

Animatrice : Emmanuelle Rial-Sebbag

Intervenants : Hervé Chneiweiss, Arnaud De Guerra et Sophie Julia

Partenaires : INSERM, Université Toulouse III Paul Sabatier, ERE Occitanie, BIOBANQUES, F-CRIN et CNRS – RTP SHS GenMed.

AUTRES ANIMATIONS SCIENTIFIQUES

Atelier - Sciences et croyances : enjeux éthiques de la construction des connaissances scientifiques

- **Volet 1 :** « Sciences médicales et Sciences humaines et sociales », le 29 mars 2018
- **Volet 2 :** « Sciences agronomiques », le 3 mai 2018
- **Volet 3 :** « Communication, (in)formation et éducation scientifique », le 21 juin 2018

Expositions

EuroScience Open Forum

Intégrée au Festival Science in the City, l'exposition « La Science Taille XX Elles », proposée par l'association Femmes & Sciences et le CNRS Occitanie Ouest, a été présentée du 6 au 15 juillet. Présente sur plusieurs sites Toulousains, cette exposition s'articulait en trois parties :

- **Expositions de 12 portraits de femmes scientifiques** de la région, issues de différentes disciplines.
- **Rencontres** avec de nombreuses scientifiques dans le cadre d'ateliers, de tables rondes et de débats sur la science, l'égalité professionnelle, les stéréotypes de genre ou encore l'orientation.
- **Parcours** dans la ville à la rencontre des femmes scientifiques qui ont marqué l'histoire et qui sont encore trop souvent oubliées voire méconnues.

Emmanuelle Rial-Sebbag a participé en tant qu'ambassadrice.



Labellisée ESOF, l'exposition **#HumainDemain**, co-produite par le Quai des Savoirs et le Muséum de Toulouse, a été présentée du 16 février au 2 septembre 2018. À la fois immersive et participative, cette exposition s'est tournée vers l'humain et les progrès techniques et scientifiques dans les domaines de la santé et du rapport au corps. En lien direct avec les recherches en cours, elle a permis de faire découvrir et d'évaluer les innovations technologiques et sociétales liées aux questions de connexion, réparation, modification, ou augmentation de l'être humain.

Muni d'un bracelet connecté, les participants ont été invités à choisir parmi la cinquantaine d'innovations présentées, celles qui leurs paraissaient les plus pertinentes pour construire la société de demain.

Gauthier Chassang a participé en tant que membre du comité scientifique.

Autres actions dans le cadre de l'ESOF

- **Festival Science in the City :** Table ronde - Un regard européen sur les États généraux de la bioéthique en France, le 12 juillet 2018 (Anne Cambon-Thomsen, Emmanuelle Rial-Sebbag).
- **Événements labellisés :** Colloque - Agricultures du futur : qualité des productions et des produits, le 15 mars 2018 (Alain-Michel Boudet) ; Colloque du GREP - L'être humain face aux défis des technosciences, du 5 au 7 avril 2018 (Anne Cambon-Thomsen) ; Appel initié par le GREP - Pour un engagement responsable face aux défis des technosciences (Gauthier Chassang).
- **Poster :** Data sharing for genetic research within the EU countries and with the Asian countries. Ethics and Law (Gauthier Chassang).



Genotoul
GENOPOLE TOULOUSE

Adresse

Bâtiment INCERE
4bis, avenue Hubert Curien
31100 Toulouse

Direction
Luc Pénicaud

Contact
contact@genotoul.fr

Site web
<http://www.genotoul.fr>
 @Genotoul

PARTENAIRES

