



## Le Centre d'Immunologie Humaine de l'Institut Pasteur - Partenaire de vos projets de recherche translationnelle

Il y a quelques mois, dans le cadre d'un séminaire organisé par la société Thermo Fisher Scientific, nous avons rencontré le Dr Matthew ALBERT, directeur du Centre d'Immunologie Humaine (CIH) de l'Institut Pasteur. Venu présenter la plate-forme de recherche clinique du CIH et les nombreuses solutions Thermo qu'elle intègre, il a accepté de répondre à nos questions. Gros plan sur le Centre d'Immunologie Humaine, dont l'expertise et les technologies de pointe sont mis à disposition de vos projets de recherche translationnelle !

**La Gazette du Laboratoire (LGdL): « Quand a été fondé le Centre d'Immunologie Humaine? Avec quels objectifs? »**

**Dr Matthew ALBERT (M. A.): « Le Centre d'Immunologie Humaine est un pôle de recherche dédié à la recherche translationnelle. Il a été créé dans le but de favoriser l'application de découvertes issues de la recherche fondamentale aux domaines du diagnostic, du traitement ou de la prévention des maladies humaines.**

Le CIH a été fondé en novembre 2007 grâce à l'appui financier de l'Institut Pasteur, du Cancéropôle et de la Région Ile-de-France, de la Fondation de la Recherche Médicale et de l'ANRS. Hébergé dans le département Immunologie de l'Institut Pasteur, il bénéficie d'un environnement de recherche et de formation en immunologie fondamentale parmi les meilleurs d'Europe. Il a reçu de la Fédération des Sociétés d'Immunologie Clinique (FOCIS) le label de « Centre d'Excellence »... »

**LGdL : « Quels sont aujourd'hui les missions du CIH et ses principaux champs d'action? »**

**M. A. : « La vision du CIH est de faire avancer la médecine grâce à**

une meilleure compréhension de la physiologie humaine et de la pathogenèse des maladies. Sa mission vise à faciliter l'émergence de collaborations entre chercheurs et cliniciens, afin d'établir une communauté scientifique réunissant des cliniciens orientés vers la recherche fondamentale et des scientifiques orientés vers la recherche clinique.

Nos efforts communs nous permettront de mieux connaître les mécanismes immunitaires mis en œuvre dans la physiologie et la pathologie humaine, de définir de nouveaux outils de diagnostic et d'identifier de nouvelles stratégies thérapeutiques. Au cœur des recherches développées aujourd'hui au sein du CIH, figurent par exemple des projets sur l'immunothérapie du cancer de la vessie, les marqueurs pronostiques de réponse au traitement chez les patients porteurs du VHC ou l'analyse des réponses protectrices naturelles contre l'infection par le VIH. A l'étude également un modèle de souris humanisées pour tester de nouveaux vaccins, ou encore, l'évaluation de l'immunogénicité de candidats vaccins anti-VIH sur des cultures cellulaires...

Spécifiquement, nos objectifs visent à valider de nouveaux concepts cliniques, principalement dans des domaines médicaux tels que les maladies infectieuses, les cancers, les allergies, l'auto-immunité et les greffes d'organe. Ils portent également sur le développement d'une plateforme technologique de pointe, sur la création d'un programme d'enseignement en immunologie translationnelle et sur l'engagement de nouveaux partenariats avec l'industrie et le secteur médical afin de transposer les découvertes fondamentales dans la pratique clinique. »

**LGdL : « De quels équipements est doté le Centre d'Immunologie Humaine? »**

**M. A. : « Notre plate-forme technologique**



Une partie de l'équipe de CIH - De gauche à droite : Estelle MOTTEZ, Lars ROGGEN, Milena HASAN et Matthew ALBERT

est conçue pour la conduite de projets nécessitant la manipulation de matériel humain infectieux. Elle est dotée d'un laboratoire de niveau P2+, intégrant un espace de recherche collaborative et de nombreuses équipements de pointe, parmi lesquels :

- un trieur de cellules (FACS Aria II) quatre lasers, pour le tri des cellules individuelles dans des plaques à 96 puits, en conditions stériles ;
- un appareil (AutoMACS) pour l'enrichissement magnétique des cellules ciblées ;
- un analyseur (Luminex100) qui permet de doser simultanément jusqu'à 100 paramètres dans un seul puits en utilisant de très petites quantités d'échantillons ;
- un logiciel statistique (OmniViz) pour l'analyse des données transcriptionnelles des puces à ADN et le profilage multi-analytes ;
- un « imaging cytometer » (ImageStreamX) qui combine en une seule plateforme la puissance de visualisation de la microscopie et la

rigueur statistique de la cytométrie de flux pour l'analyse des cellules ;

- un cytomètre (LSR II) équipé de quatre lasers (bleu, rouge, violet et UV) pour l'analyse de cellules selon 17 paramètres différents ;
- Un système de qPCR en temps réel (BioMark). Ce système permet l'analyse de cellules individuelles, qui fait de lui un instrument qui accompagne idéalement le tri des cellules individuelles dans des plaques de 96 puits en utilisant le trieur FACS Aria II. Le système BioMark a été conçu pour l'étude d'expression de gènes, le génotypage et la détermination de variation du nombre de copies. Cet instrument permet de faire une PCR digitale en minimisant les utilisations de pipettes. Il requiert une taille d'échantillon minimale (réactions PCR réactions faite dans 10 nl).
- les équipements de culture cellulaire destinés à la manipulation et au maintien des échantillons en conditions stériles.

Toutes ces technologies de pointe sont accessibles aux chercheurs du campus, mais aussi à toute la communauté scientifique, dans l'optique de développer des projets de recherche translationnelle... »

**LGdL : « Quels types de services propose le CIH de l'Institut Pasteur aux chercheurs du campus et à l'ensemble de la communauté scientifique ? »**

**M. A. : « Notre équipe met à disposition des chercheurs de l'Institut Pasteur, mais aussi des membres institutionnels et des industriels, ses ressources technologiques et humaines au travers de collaborations actives pour mener à bien les projets de recherche translationnelle. Au-delà de son expertise scientifique, le CIH propose un conseil technologique adapté et un accompagnement personnalisé dans la préparation des dossiers cliniques. Il apporte également son aide dans la gestion logistique des projets et se positionne comme une interface entre partenaires académiques et industriels.**

Nous organisons par ailleurs régulièrement des formations sur les différents équipements dont dispose notre plateforme et nous envisageons de concevoir à terme un programme de formation en immunologie humaine et clinique.

**Froilabo**

**Centrifugeuse SW14 ....**

**Ensemble, imaginons le futur !**

**FROILABO innove et présente : la SW14**

La centrifugeuse SW14 vous permet non seulement de centrifuger des microvolumes mais aussi des volumes de 10 ml, 15 ml et 50 ml. Plus besoin de 2 centrifugeuses sur votre paillasse !!

- Haute vitesse : 14 000 rpm
- Changement de rotor en 1 seconde
- Capacité maximale : 6 x 50 ml avec rotor angulaire
- Capacité en microtubes importante : 48 x 0.2 ml

FROILABO - 8 Bd Monge - 69330 Meyzieu  
www.froilabo.com - froilabo@froilabo.com

Étuves    Congélateurs -86°C    Incubateurs    Encloîtres ICH



Précisons enfin que l'équipe du CIH organise chaque année la JRT, Journée de la Recherche Translationnelle qui aura lieu le 19 novembre 2010. Vous pouvez d'ores et déjà vous inscrire sur [cih@pasteur.fr](mailto:cih@pasteur.fr). Cette conférence vise à fédérer une communauté réunissant des chercheurs fondamentaux et des cliniciens, et à encourager les étudiants et médecins à se former dans le domaine de la recherche translationnelle. La JRT constitue également un forum où les projets de recherche translationnelle actuellement menés au sein du CIH sont présentés et débattus. »

#### Pour en savoir plus :

Milena HASAN,  
responsable du Centre d'Immunologie Humaine  
– Institut Pasteur  
**Email :** [cih@pasteur.fr](mailto:cih@pasteur.fr)  
**Web :** [www.pasteur.fr](http://www.pasteur.fr)  
**Tel :** 01.40.61.30.27

S. DENIS

## Structure des biomacromolécules : voir plus grand et plus précisément grâce à un nouveau procédé de marquage

Des chercheurs grenoblois<sup>1</sup> du CEA<sup>2</sup>, du CNRS et de l'Université Joseph Fourier viennent de développer une nouvelle technique de marquage permettant de repousser les limites de la résonance magnétique nucléaire (RMN)<sup>3</sup>. Ce procédé a permis de détecter, pour la première fois, des interactions très faibles, jusqu'alors prédites mais encore jamais caractérisées dans les macromolécules biologiques. Il a également rendu possible l'étude d'une protéine de grande taille, avec une résolution au niveau atomique. Ce nouveau procédé de marquage permettra notamment une meilleure compréhension du fonctionnement des machineries biologiques. Ces résultats sont publiés dans les revues *Angewandte Chemie International Edition* et *Nature Chemistry*.

L'un des défis actuels de la biologie est de déterminer, au niveau atomique, la structure et le fonctionnement des assemblages de protéines de grande taille. La Résonance magnétique nucléaire (RMN) est une méthode de choix pour les étudier en solution. Cependant, cette technique se caractérise par une faible sensibilité et reste limitée à des molécules de taille modeste. Pour repousser ces limites, il est nécessaire d'avoir recours au marquage isotopique spécifique<sup>4</sup> des protéines consistant à remplacer la plupart des atomes d'hydrogène par du deutérium (isotope<sup>5</sup> de l'hydrogène, invisible en RMN). Ainsi, seuls certains atomes d'hydrogène, situés dans des positions particulières de la protéine, sont conservés et visibles. Cette technique simplifie en partie l'analyse de la structure en observant uniquement les atomes d'hydrogène d'intérêt.

Pour simplifier davantage l'analyse d'édifices moléculaires complexes et ne marquer que certains atomes d'hydrogène avec une localisation encore plus précise, les chercheurs ont développé un nouveau protocole de marquage isotopique. « Nous pouvons désormais incorporer des groupes méthyles <sup>13</sup>CH<sub>3</sub> de façon stéréosélective<sup>6</sup> dans les acides aminés leucine et valine des protéines, et ceci directement lors de leur biosynthèse. Pour développer ce procédé, nous avons dû mettre en place et optimiser des modes de synthèse organique permettant de produire différents précurseurs<sup>7</sup> spécifiquement enrichis en isotopes stables - deutérium et carbone-13 », explique Olivier Hamelin, responsable de la synthèse des précurseurs marqués isotopiquement. « Ces précurseurs vont maintenant pouvoir être utilisés pour déterminer la structure de nombreuses biomolécules complexes. »

Ce marquage stéréosélectif augmente considérablement la qualité des données RMN et ouvre la porte à de nombreuses applications. « Nous avons ainsi pu observer une protéine de 500 kDalton<sup>8</sup>, soit dix fois plus grosse que celles observées classiquement », précise Jérôme Boisbouvier, spécialiste des développements technologiques en RMN. « Cette protéine, impliquée dans le système de contrôle qualité des protéines cellulaires<sup>9</sup>, n'est qu'un exemple des nombreuses molécules que les biologistes vont désormais pouvoir observer en solution grâce à ce nouveau procédé ».

Par ailleurs, grâce à l'amélioration de sensibilité apportée par cette technique, les chercheurs ont pu caractériser<sup>10</sup>, pour la première fois, un type particulier de liaisons hydrogènes, présent dans les protéines. Ces interactions, jusqu'alors uniquement prédites d'un point de vue théorique, n'avaient jamais pu être détectées expérimentalement à l'intérieur des protéines du fait de leurs très faibles intensités. Cette nouvelle stratégie de marquage est compatible avec les techniques de RMN rapide développées récemment

par ces chercheurs. Celles-ci permettent de réduire le temps expérimental pour l'observation par RMN d'assemblages moléculaires pouvant atteindre un mégaDalton. Ces développements technologiques sont des pas importants vers l'observation en temps réel et à la résolution atomique de machineries biologiques complexes en pleine action.

1 Institut de biologie structurale Jean-Pierre Ebel (CEA / CNRS / Université Joseph Fourier) et Laboratoire de chimie et biologie des métaux (unité mixte CEA / CNRS / Université Joseph Fourier)

2 Institut de biologie structurale Jean-Pierre Ebel et Institut de recherches en technologies et sciences pour le vivant de la Direction des sciences du vivant du CEA

3 Résonance magnétique nucléaire : phénomène par lequel un noyau de l'atome considéré absorbe les rayonnements électromagnétiques d'une fréquence spécifique en présence d'un fort champ magnétique. Ses applications concernent la physique, la chimie, l'imagerie médicale et la biologie structurale.

4 Marquage isotopique spécifique : substitution de 100 % de l'atome naturel d'hydrogène par du deutérium et réinsertion spécifique en quelques sites déterminés de l'atome naturel d'hydrogène, atome observable par Résonance magnétique nucléaire.

5 Deux atomes sont dits isotopes s'ils ont le même nombre de protons mais un nombre de neutrons différent.

6 Dans les protéines, les acides aminés leucine et valine possèdent en bout de chaînes deux méthyles (CH<sub>3</sub>). Le remplacement des protons sera stéréosélectif s'il permet d'introduire spécifiquement des protons dans un seul de ces méthyles.

7 Précurseurs : petites molécules chimiques qui vont être utilisées pour la synthèse d'une molécule. Dans le cas présent, ces précurseurs vont permettre d'introduire les isotopes dans les molécules qui doivent être marquées.

8 Un Dalton est la masse d'un atome d'hydrogène. Un acide aminé de protéine représente environ 110 Da, un assemblage d'un méga Dalton contient environ 9 000 acides aminés.

9 Dans la cellule, un ensemble de grosses machines biologiques sont chargées de contrôler la qualité des protéines cellulaires et de les dégrader si nécessaire.

10 Ce travail a été réalisé en collaboration avec le Pr. D. Bryce de l'université d'Ottawa : <http://www.science.uottawa.ca/~dbryc159>

#### Référence des articles :

*Direct detection of CH/π interactions in proteins.* Michael Plevin, David Bryce & Jérôme Boisbouvier.

*Nature Chemistry (2010), online.*  
*Stereospecific isotopic labeling of methyl groups for NMR spectroscopic studies of high-molecular-weight proteins.* Pierre Gans, Olivier Hamelin, Remy Sounier, Isabel Ayala, Asunción Durá, Carlos Amero, Marjolaine Noirclerc-Savoye, Bruno Franzetti, Michael Plevin, & Jérôme Boisbouvier.

*Angewandte Chemie International Edition, (2010); 49, pp. 1958-1962.*

#### Contacts chercheurs :

Jérôme Boisbouvier  
**Email :** [jerome.boisbouvier@ibs.fr](mailto:jerome.boisbouvier@ibs.fr)

Olivier Hamelin  
**Email :** [olivier.hamelin@cea.fr](mailto:olivier.hamelin@cea.fr)

## Secoué ou bien agité?



RH basic 2 IKAMAG®

Agitateur magnétique avec plaque en inox.

Référence: 3339000

Prix brut: 435,00 €

259,00 €



KS 130 basic Paquet

Petit agitateur orbitale pour une capacité d'agitation jusqu'à 2 kg. STICKMAX tapis universel antidérapant et AS 130.3 support plateau.

Référence: 9019000

Prix brut: 1.066,50 €

699,00 €

Best Value 2010.  
IKA® vous dit  
Merci.



IKA® célèbre ses 100 ans - Joignez-vous à la fête! Jusqu'à 40% de remise sur les agitateurs, secoueurs et disperseurs. Profitez-en! Renseignez-vous auprès de votre distributeur local ou contactez directement IKA®.

[www.ika.net](http://www.ika.net)

IKA®