



# INTEGRA



## La Plate-Forme d'Imagerie PRIMACEN s'équipe d'un système de PCR Temps réel LightCycler® 1536

La Plate-Forme d'Imagerie PRIMACEN, implantée sur le campus de la Faculté des Sciences de l'Université de Rouen à Mont-Saint-Aignan (76), vient d'acquérir une plate-forme de PCR quantitative Roche LightCycler® 1536. L'équipement permet de traiter 1536 échantillons dans un volume réactionnel final de 2 µl en moins de 50 minutes. PRIMACEN l'utilise aujourd'hui pour développer des séries d'amorces dirigées contre des familles de gènes afin de pouvoir étudier des voies métaboliques. M. David VAUDRY, chargé de recherche INSERM, nous présente la plate-forme PRIMACEN, et tout particulièrement ses travaux mettant en œuvre le LightCycler® 1536...

### PRIMACEN, un élément technologique majeur de l'IFRMP23

« PRIMACEN signifie « Plate-forme régionale de Recherche en IMagerie CELLulaire de haute-Normandie », explique le Dr David VAUDRY. « Implantée sur le campus de la Faculté des Sciences de l'Université de Rouen à Mont-Saint-Aignan (76), elle constitue l'une des pièces maîtresses de l'IFRMP23, aux côtés de la Plate-forme de Protéomique et de huit services communs dotés d'équipements très performants. »

Rappelons que l'IFRMP23 - Institut Fédératif de Recherches Multidisciplinaires sur les Peptides - a été créé en 1994 avec la première vague des IFRs. Depuis sa création, l'IFRMP23 a fortement contribué à la structuration de la recherche biomédicale en Haute-Normandie en coordonnant l'activité des équipes fondatrices autour d'un thème fédérateur commun. Son objectif stratégique ? Promouvoir les recherches transdisciplinaires sur les peptides et protéines à potentiel diagnostique ou thérapeutique, et mettre en place un continuum allant des recherches les plus fondamentales jusqu'aux études cliniques, sur les peptides. Ses activités sont menées en synergie avec la technopôle Chimie-Biologie-Santé, créée par le Conseil Régional de Haute-Normandie.

L'IFRMP23 bénéficie également du soutien du Ministère de la Recherche, de l'Inserm, du CNRS, du GIS IBIISA, de l'Université de Rouen, des collectivités territoriales, des fonds européens et des associations caritatives...

### Six services pour un large champ d'investigations en imagerie cellulaire

Dirigée par le Dr Hubert VAUDRY et animée par le Dr Ludovic GALAS, PRIMACEN a été identifiée «plate-forme opérationnelle» en 2001 et 2003 par la Réunion Inter-Organismes (qui regroupe l'Inserm, le CNRS, l'INRA et le CEA). Elle a reçu le label de «plate-forme régionale» en 2004 et 2006, puis le label IBIISA (Infrastructures en Biologie Santé et Agronomie) en 2008.

« PRIMACEN regroupe six services qui couvrent un large spectre d'activités dans le domaine de l'imagerie

cellulaire, depuis la synthèse de biomarqueurs et la préparation des échantillons, jusqu'à la localisation et la détermination de l'activité biologique d'une molécule d'intérêt », ajoute David VAUDRY.

→ **Synthèse de Peptides et Biomarqueurs** (Responsable: Dr Jérôme Leprince): synthèse, purification, analyse et caractérisation de peptides, analogues peptidiques, ou biomarqueurs. La principale question abordée porte sur l'étude des relations structure-activité de peptides biologiquement actifs, mais les activités du service s'étendent à toutes les recherches propres aux différentes équipes de l'IFRMP23 ou aux clients extérieurs comme par exemple la fourniture de peptides et pseudo-peptides d'intérêt.

Ses prestations couvrent également le domaine d'application de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour l'analyse de peptides naturels contenus dans des échantillons biologiques et la protéomique par exemple. Le service est à même de synthétiser des peptides naturels, de concevoir et synthétiser des peptides modifiés (analogues stables, peptides biotinylés, peptides fluorescents), de les purifier, de les caractériser, et de les conditionner à des fins de recherche académique ou privée, à l'exclusion des protocoles d'administration chez l'Homme.

→ **Criblage de molécules bioactives** (Responsable : Dr Christophe Dubessy): identification de molécules bioactives et détermination de l'activité biologique de molécules naturelles ou de synthèse. Les tests sont effectués sur des cultures de lignées cellulaires et des cultures primaires par des techniques de spectrofluorimétrie. Les tests biologiques proposés sont par exemple la mesure de variations de la  $[Ca^{2+}]_i$ , d'AMPc, de potentiel membranaire, d'activités enzymatiques ou encore de survie cellulaire. Ils sont réalisés par des approches à faible et moyen débit, soit au niveau d'une cellule unique soit au niveau d'une population cellulaire, en fonction du nombre d'échantillons à analyser et du type de problème à résoudre.

→ **Microscopie conventionnelle et autoradiographie** (Responsable : Dr Ludovic Galas): localisation de molécules d'intérêt, d'ARNm de peptides ou de protéines d'intérêt, et de sites de liaison (binding). La localisation de molécules d'intérêt est réalisée par immunohistochimie en utilisant des fluorophores ou chromophores en microscopie à champ large. La localisation d'ARNm est réalisée en macro- et microautoradiographie par la technique d'hybridation *in situ* avec des sondes nucléotidiques radioactives ( $^{35}S$ ) ou froides (digoxigénine, biotine...). La localisation de sites de liaison est réalisée par autoradiographie en utilisant des ligands radioactifs ( $^3H$  ou  $^{125}I$ ). Les échantillons biologiques traités dans le service concernent les tissus et cellules d'origine végétale, animale ou humaine.

→ **Micro- et macroscopie confocale et vidéomicroscopie** (Responsables : Drs Ludovic Galas et Magalie Bénard): localisation par technique

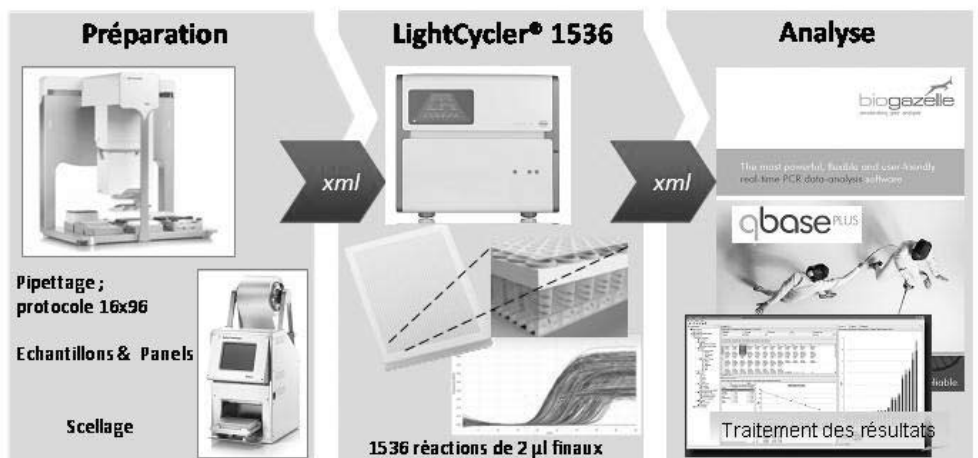
## VACUSIP

### L'évacuation simple des déchets liquides

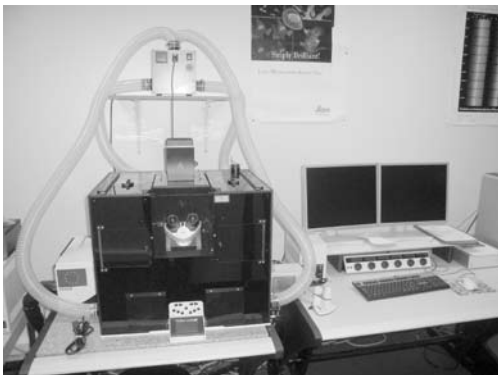
- Un système **compact et complet** d'aspiration des déchets liquides qui a sa place sur chaque paillasse.
- **Portable et pratique**, utilisable en tous lieux grâce à sa pompe aspirante et sa batterie rechargeable intégrées.
- **Polyvalent et précis** : ce système manuel, compatible avec différents adaptateurs, permet l'aspiration commode de liquides à partir de tubes à échantillons, de plaques et d'autres conteneurs.
- **La manipulation est propre et sûre**, puisque toutes les parties entrant en contact avec les liquides peuvent être autoclavées.

Pour plus d'informations, veuillez consulter :

[www.vacusip.info](http://www.vacusip.info)



Présentation de la solution accompagnant le système PCR à haut débit light cycler 1536



Système confocal équipé d'une chambre thermostatée pour suivre des événements dynamiques dans des cellules ou tissus vivants

d'immunohistochimie de molécules d'intérêt (neurotransmetteurs, neuropeptides, récepteurs, protéines, enzymes...) au sein de tissus et cellules traités par un fixateur. En utilisant des protéines de fusion ou des colorants vitaux, la localisation de ces molécules est également réalisée sur des tissus et cellules vivants.

Cette approche technologique rend possible l'étude spatiotemporelle des processus biologiques comme la survie cellulaire, le trafic membranaire et la migration cellulaire. Les logiciels d'acquisition et d'analyse d'images permettent également les techniques de TIRF, FRAP, FLIM et la reconstruction 3D après déconvolution.

→ Microscopie électronique (Responsables : Pr Azeddine Driouich et Dr Sophie Bernard): analyse ultrastructurale et localisation à l'échelle subcellulaire de molécules d'intérêt par immunocytochimie dans des diverses cellules. Le service dispose de nombreux appareils permettant de mettre en œuvre de très nombreuses techniques dans le domaine de la microscopie électronique : cryofixation haute-pression, immunocytochimie, ultramicrotomie à froid et à température ambiante... Le service possède un savoir-faire important sur les échantillons végétaux, mais aussi animaux et bactériens...

→ Microdissection laser et Q-PCR (Responsable : Dr David Vaudry): quantification de l'expression génique dans différents tissus ou dans des cellules en culture. Les appareils disponibles permettent de réaliser des interventions chirurgicales pour traiter les animaux, puis la découpe fine de structures d'intérêt dans des tissus par microchirurgie ou par microdissection laser. Le service propose aussi l'extraction des ARN, la distribution robotisée des plaques de PCR et l'analyse par PCR quantitative.

Un nouvel équipement clé : le Roche LightCycler® 1536

Grâce à un financement FEDER, PRIMACEN a tout récemment fait l'acquisition d'une plate-forme de PCR quantitative Roche LightCycler® 1536, qui permet de traiter 1536 échantillons dans un volume réactionnel final de 2 µl en moins de 50 minutes. « Le LightCycler® 1536 a été choisi pour sa souplesse, sa sensibilité et sa reproductibilité », commente le Dr David VAUDRY.

PRIMACEN développe maintenant des séries d'amorces dirigées contre des

familles de gènes afin de pouvoir étudier des voies métaboliques. Chaque série contient des amorces dirigées contre 84 gènes d'intérêt, des amorces pour amplifier 7 gènes de ménage et un ensemble de 5 contrôles internes afin de valider les expériences.

« Chaque couple d'amorces a été conçu par nos soins et validé en terme de spécificité et d'efficacité », ajoute M. VAUDRY. « Bien que plusieurs formats soient disponibles, nos séries d'amorces ont été principalement développées pour pouvoir analyser 16 échantillons d'ADNc simultanément. Une application internet est en cours de

préparation pour aider nos utilisateurs à analyser et à interpréter leurs résultats... »

A la recherche de partenaires académiques et industriels...

PRIMACEN a pour vocation d'ouvrir ses services à une large communauté scientifique, non seulement aux équipes du site, mais aussi aux expérimentateurs extérieurs, quel que soit leur rattachement (organismes publics, entreprises...), au niveau régional, national et international.

« Notre nouveau système de PCR quantitative Roche LightCycler® 1536 va permettre de valider vos expériences de microarray, de réaliser l'étude d'un processus cellulaire (apoptose, réponse inflammatoire...),

de rechercher des contaminants bactériens, d'analyser la toxicité de composés... », souligne David VAUDRY. « Nous proposons déjà plusieurs panels (cycle cellulaire, stress oxydatif, apoptose...) et recherchons actuellement des partenaires académiques et industriels intéressés par la technologie pour développer des panels spécifiques... »

S. DENIS

Pour plus d'information, contactez :

David VAUDRY  
david.vaudry@univ-rouen.fr  
http://primacen.crihan.fr



La nouvelle génération de réactifs de transfection Roche

X-tremeGENE

Des rendements de transfection plus performants

Sur toutes vos cellules, une performance X-treme :

- rendements de transfection remarquables sur les cellules les plus délicates,
- efficacité de transfection renforcée sur les cellules "standard" du fait d'une faible cytotoxicité,
- protocole simple et rapide, même en présence de sérum.



Jugez par vous-même avec un échantillon de 200 µL sur : <http://x-tremegene.roche.com>

Roche Diagnostics  
2, avenue du Vercors - BP 59  
38242 MEYLAN Cedex  
Tél. : +33 (0)4 76 76 30 00  
Fax : +33 (0)4 76 76 30 01  
www.roche-applied-science.com

