



## La plate-forme de criblage phénotypique à haut débit de l'IGBMC se dote de banques siRNAs pan-génomiques Thermo Scientific et rejoint le Consortium RNAi Global initiative

En décembre dernier, la plate-forme de criblage phénotypique à haut débit (Criblage HD) de l'IGBMC a intégré le Consortium RNAi Global initiative et s'est dotée de deux banques siRNAs pan-génomiques Thermo Scientific. Forte de ces nouvelles technologies et dans le cadre d'un programme d'investissement important mis en œuvre au sein de l'infrastructure nationale en biologie-santé INGESTEM, elle gagne tout particulièrement en débit, qualité et traçabilité pour l'analyse de grandes banques (siRNA, molécules...).

Laurent BRINO, PhD, fondateur et coordinateur de la plate-forme Criblage HD, répond à nos questions.

**La Gazette du Laboratoire (LGdL) :** « Bonjour Monsieur BRINO. Vous êtes à l'origine de la création de la plate-forme de criblage phénotypique à haut débit à Illkirch. Depuis quand date le lancement de cette plate-forme et quelles sont ses ambitions ? »  
**Laurent BRINO (L. B.) :** « La plate-forme de criblage phénotypique à haut débit (Criblage HD) a été lancée en 2006 à Illkirch en Alsace. Elle est implantée sur le campus de l'Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC, CU de Strasbourg) dont elle constitue l'un des services génomiques à haut débit. Avec les services de l'ICS, des cellules souches de l'IGBMC et sous la coordination scientifique du Pr Olivier Pourquie, elle fait aujourd'hui partie du noyau strasbourgeois de l'infrastructure nationale en biologie-santé INGESTEM, financée à travers le programme Investissement d'Avenir (2011), et vise aujourd'hui à développer son parc d'instrumentation pour appliquer les technologies de criblage à haut débit à l'analyse de grandes banques telles que siRNA et molécules... »

**LGdL :** « INGESTEM... quels sont les objectifs de ce projet sur Strasbourg ? »  
**L. B. :** « Les objectifs afférant à notre activité de criblage sur Strasbourg dans le cadre de l'infrastructure nationale d'ingénierie des cellules souches pluripotentes INGESTEM, concernent :  
→ la production de lignées de cellules pluripotentes murines (ES et iPS) et humaines (iPS) portant un rapporteur fluorescent intégré de manière stable, sous le contrôle transcriptionnel d'un promoteur spécifique de types cellulaires ;  
→ l'utilisation de ces cellules pour élaborer des protocoles de différenciation et cribler des composés chimiques et des banques de siRNAs afin d'identifier des modulateurs de ce processus de différenciation.  
A terme, l'objectif sera de proposer un catalogue de services HTS pour la communauté scientifique travaillant sur les cellules souches. »

Précisons que le projet INGESTEM réunit, sous la coordination du Pr Anne-Lise BENNACEUR-GRISCELLI, cinq équipes pionnières en France dans le domaine des cellules souches pluripotentes : IGBMC à Strasbourg, l'ESTeam Ile-de-France, I-Stem à Evry, Prima-Stem à Lyon et IRB à Montpellier. Récemment retenu dans le cadre du programme sur les Investissements d'Avenir, il a pour objectif premier de constituer une biobanque unique de cellules souches à vocation thérapeutique et de structurer cette filière autour d'un pôle industriel. Grâce à cette infrastructure nationale, un développement plus efficace et standardisé de ces cellules souches permettra une industrialisation plus rapide et des avancées significatives pour la modélisation des maladies humaines et la définition de nouveaux protocoles thérapeutiques, notamment dans le domaine de la médecine régénérative.

**LGdL :** « Quelles sont aujourd'hui les ressources humaines et matérielles dont dispose la plate-forme Criblage HD ? »  
**L. B. :** « Notre plate-forme s'organise

actuellement autour d'un laboratoire L2, équipé de systèmes d'analyse par imagerie cellulaire à haut débit pour la culture cellulaire et les analyses par ARN interférence. La transfection de cellules à haut débit et l'analyse phénotypique y sont réalisées sur une station robotique TECAN Freedom EVO, un système d'imagerie automatisé INCELL1000 de GE Healthcare et un spectromètre Berthold Mithras LB940 multimode à haut débit. Un réseau Gb de transfert de données a été mis en place pour répondre à tous les besoins des utilisateurs en termes de stockage de données et d'accès, d'analyse d'images à distance et un dispositif de pilotage du système d'imagerie. Notre équipe de base réunit aujourd'hui cinq ingénieurs, forts d'une grande expérience dans l'ARN interférence, l'expression des gènes, la culture de cellules de mammifères et de la biologie cellulaire... »

**LGdL :** « Quelles ont été les premières grandes réalisations de la plate-forme Criblage HD et quels sont désormais ses principaux axes de développement ? »

**L. B. :** « Plusieurs collaborations importantes ont été initiées ces deux dernières années dans le cadre de criblages par interférence ARN et des analyses biostatistiques associées. Depuis son lancement en 2006, notre équipe a ainsi participé aux phases de découverte de plus de 30 projets dans le domaine de la recherche sur le cancer et la virologie. Une étude menée avec le groupe de T. BAUMERT (Inserm U748, Strasbourg) a d'ailleurs récemment permis l'identification des cibles thérapeutiques pour prévenir l'infection virus de l'hépatite C dans le foie humain (Lupberger J. et al., Nature Medecine 2011 ; Zona L. et al., Cell Host and Microbe 2013 sous presse).  
Notre plate-forme telle qu'elle est constituée aujourd'hui, est donc déjà largement opérationnelle, mais son déploiement rendu possible grâce au projet INGESTEM va lui permettre de gagner en débit, en qualité et en traçabilité. Une première phase d'investissement programmée sur 2012 et 2013 cible notamment l'acquisition d'un nouveau poste de travail robotisé, couplé avec un microscope automatisé à haut débit, et de nouvelles banques de composés dont les deux banques siRNAs pan-génomiques de Thermo Scientific. Un nouveau module de culture cellulaire de cellules ES et iPS sera également mis en place pour permettre l'amplification de cellules lors des criblages et le développement des protocoles de différenciation. »

**LGdL :** « Pouvez-vous nous en dire davantage sur les deux banques siRNAs pan-génomiques dont vous avez récemment fait l'acquisition et les projets concernés ? »

**L. B. :** « Tout d'abord, quelques mots sur la technologie. L'interférence ARN (RNAi) est un mécanisme post-transcriptionnel d'extinction de l'expression de gènes, qui entraîne la destruction des ARN messagers via un mode d'action gène-spécifique. Il participe à la défense cellulaire contre les infections virales, à la propagation de transposons - éléments génétiques instables et potentiellement dangereux - et joue également un rôle important dans la régulation de gènes impliqués dans la différenciation cellulaire chez les plantes et les animaux.  
Fire et al. ont montré que l'expression des gènes dans les cellules de mammifères est efficacement éteinte par la transfection de petits ARNs double brins d'une taille de 21-23 nucléotides. Dès lors, l'interférence ARN a révolutionné la recherche en biologie, par la capacité d'analyser la fonction d'un gène en éteignant son expression. En d'autres termes, la capacité d'éteindre transitoirement et spécifiquement l'expression des gènes permet l'analyse génétique par « perte de fonction » sur des systèmes de grande taille ou complexes. La technologie RNAi offre par conséquent le potentiel d'accélérer les études en génétique fonctionnelle, et cela à haut débit.



« Institut IGBMC » : INSERM Patrice Latron



Crédits IGBMC

Des bibliothèques de siRNAs pan-génomiques (homme, souris, rat) ont ainsi pu être générées par la compréhension du mécanisme de l'interférence ARN et la production industrielle de molécules siRNA de haute qualité. Nous proposons aujourd'hui d'appliquer cette technologie sur différents types de cellules : ES et iPS, cellules dérivées, lignées cancéreuses, primaires... »

**LGdL :** « Quelles raisons vous ont motivés à choisir tout particulièrement la technologie Thermo Scientific ? »

**L. B. :** « Les banques RNAi Thermo Scientific SIGENOME™ et ON-TARGETplus™ (OTP) SMARTpool™ dont nous avons fait l'acquisition, ciblent respectivement les génomes murins et humains. Les technologies SMARTpool™ et ON-TARGETplus™ sont robustes et permettent de baisser le taux de découverte de faux positifs en réduisant significativement les effets non-spécifiques « Off-Target » des ARN interférents (effets miRNA, compétition des brins ARN pour l'activation du complexe RISC, activation de la réponse interféron).  
Grâce aux analyses génétiques par « perte de fonction » réalisées sur notre plate-forme, nous avons déjà pu identifier des cibles thérapeutiques, des molécules inhibitrices pour le traitement de l'hépatite C et comprendre les étapes précoces de l'infection virale dans les cellules hépatiques. La virologie moléculaire constitue de fait un axe fort de nos activités de recherche, mais notre plate-forme a également vocation à travailler sur d'autres pathologies, cancéreuses et génétiques par exemple. L'utilisation des techniques de criblage à haut débit pour l'établissement de modèles cellulaires sera intégrée très prochainement à notre activité R&D, notamment dans le cadre de l'infrastructure INGESTEM... »

**LGdL :** « Vous êtes la seconde plate-forme française [la première étant l'Equipex ImaginEx BioMed de l'Institut de Biologie de Lille (IBL)] à avoir rejoint le Consortium RNAi Global initiative (RGI). Quelles sont vos motivations ? »

**L. B. :** « Cela fait quelques années en réalité - depuis la création de la plate-forme Criblage HD - que nous souhaitons rejoindre le Consortium RNAi Global initiative. Le RGI regroupe en effet de nombreuses institutions à travers le monde, fort utiles pour faire progresser l'utilisation de la technologie RNAi, encore émergente. Il est notamment nécessaire d'adapter les méthodes d'analyse développées pour le criblage HTS et le criblage de banques de petites molécules

chimiques à la caractérisation phénotypique multi-paramétrique en « cellule unique », qui s'appuie sur l'imagerie cellulaire à haute résolution.

Le Consortium a déjà fait progresser les méthodes en abordant une réflexion approfondie sur les bonnes pratiques, en développant des outils et en proposant des solutions pour l'accès aux données RNAi. Mais, de nombreuses questions restent sans réponse et la formation de groupes de travail permet d'y réfléchir.

Si la différenciation des cellules souches est un projet R&D qui va démarrer en 2013, celui-ci pourrait conduire à la création d'un nouveau groupe de discussion au sein du Consortium. Toutefois, notre activité RNAi dans l'étude des relations Hôte-Virus justifierait également notre participation au groupe de travail de cette thématique. »

**LGdL :** « Pour conclure, pouvez-vous nous préciser à quels types de laboratoires s'adressent les prestations proposées par la plate-forme Criblage HD et quelles sont les prochaines grandes étapes clés de son développement ? »

**L. B. :** « La plate-forme Criblage HD est ouverte aux groupes de recherche académiques comme aux entreprises. L'activité INGESTEM est à son début, mais certains modèles cellulaires sont d'ores et déjà accessibles via le réseau de l'infrastructure ; n'hésitez pas donc à nous contacter !  
Le nouveau plateau technique robotisé sera par ailleurs installé aux alentours d'août ou septembre 2013 pour une mise en activité en 2014. »

Pour en savoir plus :

Plate-forme Criblage Haut Débit - IGBMC  
Laurent BRINO, PhD, Coordinateur Plate-forme Criblage Haut Débit, IGBMC  
laurent.brino@igbmc.fr  
Tél. : 03 88 65 57 90  
http://www.igbmc.fr/

Thermo Scientific Molecular Biology products  
Brigitte PERTUISSET, Molecular Biology Specialist  
Tél. : 01 30 58 02 05  
brigitte.pertuisset@thermofisher.com  
www.thermoscientific.com/onebio

RGI (Consortium RNAi Global initiative)  
www.rnaglobal.org