Association Française
de Cytométrie

Association loi 1901 - N° SIRET : 399 911 031 00033 - Code APE : 7219Z

Rapport bourse de mobilité AFC 2022

« Transfert de connaissance en cytométrie »

Nom - Prénom du Bénéficiaire : BARBARIN Alice

Nom et adresse du Laboratoire ou Plateforme d'appartenance (Institut – Unité – Équipe – Groupe) :
IRMETIST-INSERM U1313
Université de Poitiers - SFA -PBS- B36
1 rue Georges Bonnet - TSA 51106
86073 Poitiers cedex 9

Nom et adresse du Laboratoire ou Plateforme d'accueil (Institut – Unité – Équipe – Groupe) :
Centre de Recherche Translationnelle en Transplantation et Immunologie, INSERM U1064, Équipe 4
30 Boulevard Jean Monnet
44093 Nantes Cedex 1

Nom - Prénom du tuteur de stage : Dr. Nicolas DEGAUQUE

RAPPORT

Le laboratoire INSERM U1313 IRMETIST-Axe 3 (Reprogrammation du système immunitaire et réparation en inflammation stérile) est animé par le Dr. André Herbelin et le Pr. Jean-Marc Gombert. Notre groupe travaille sur le rôle de l'immunité innée (lymphocytes T innés) dans des situations chroniques (cancer) ou d'inflammation stérile (ischémie-reperfusion d'organe).
Notre programme de recherche principal vise à une meilleure connaissance des mécanismes d'initiation des lésions d'ischémie-reperfusion (IR) inhérentes à la transplantation d'organe solide engageant la réponse immunitaire innée. Ce projet s'appuie sur nos résultats acquis en recherche translationnelle clinique chez l'Homme ainsi qu'en expérimentation animale chez la souris, qui montrent l'implication décisive d'une alarmine dénommée IL-33 et des cellules iNKT, archétype des cellules T-αβ innées, dans les évènements précoces responsables du syndrome d'IR. Un deuxième programme de recherche est centré sur les lymphocytes (L) T CD8 innés, une nouvelle population cellulaire du système immunitaire que nous avons découvert chez l'Homme, lesquels sont porteurs d'un potentiel anti-tumoral.

Depuis novembre 2020, nous utilisons sur la plateforme ImageUP de l'Université de Poitiers un cytomètre spectral (Aurora, Cytek), pour lequel nous avons développé plusieurs panels d'anticorps permettant l'analyse en cellule unique de plus de 30 protéines membranaires ou intracellulaires. Chez l'Homme, nous avons ainsi analysé des cellules circulantes mononucléées du sang ainsi que des cellules de la moelle osseuse, de sujets sains, de patients atteints d'hémopathies malignes (LMC, myélome multiple) ou ayant bénéficié d'une transplantation hépatique ou encore des échantillons de tumeurs dissociées. Concernant les études sur l'implication de l'IL-33 dans l'ischémie-reperfusion du foie dans le modèle murin, 4 panels complexes sont actuellement utilisés.

La bourse de mobilité de l'AFC « transfert de connaissance » a été utilisée pour la formation d'Alice Barbarin, Ingénieure de Recherche à l'INSERM U1313 et spécialiste du cytomètre spectral Aurora. La bourse a été utilisée pour deux déplacements au Centre de Recherche Translationnelle en Transplantation et Immunologie de Nantes, pour une formation et des échanges avec le Dr. Nicolas Degauque (CRCN INSERM), immunologiste animant un groupe de recherche autour de l'étude des lymphocytes T CD8 en transplantation et dans les maladies auto-immunes. Nicolas Degauque a acquis une solide expertise en cytométrie spectrale (Cytek AURORA 5 lasers) et dans les analyses supervisées et non-supervisées (via la plateforme OMIQ).

Le premier déplacement a servi à la formation de base de la solution d'analyse des données de cytométrie en flux avec la plateforme OMIQ :

- Mise en place d'un pipeline d'analyse
- Importation, contrôles qualité et nettoyage des données
- Utiliser des outils pour corriger le « batch-effect »
- Outils de visualisation en réduction de dimension (t-SNE, UMAP...) et clusterisation hiérarchique (FlowSOM, Phenograph) : compréhension des outils, tests de différents paramètres, etc…

J'ai ensuite mis en pratique ces nouvelles connaissances sur un jeu de données disponibles au laboratoire et le deuxième déplacement a consisté à discuter et valider les choix des méthodes d'analyses utilisées. Nous avons notamment discuté de la normalisation des données avec l'algorithme CytoNorm et revu les options les plus pertinentes pour FlowSOM et UMAP/t-SNE.
Les échanges avec le Dr. Nicolas Degauque continueront prochainement afin de valider définitivement un premier pipeline d'analyses non-supervisées et à plus long terme, des possibilités de collaborations entre les deux laboratoires sont à l'étude.

Bénéfices pour le laboratoire d'appartenance/la communauté locale :

A Poitiers, je suis la responsable scientifique du cytomètre spectral ainsi que de la formation des utilisateurs. Les méthodes d'analyses de données multiparamétriques sont appliquées aux différents projets de recherche de l'unité U1313 et les compétences acquises transmises à l'ensemble des membres de l'équipe INSERM U1313 ainsi que plus largement aux utilisateurs du cytomètre spectral de la plateforme ImageUP susceptibles d'être intéressés.

Le transfert des connaissances a déjà commencé au sein de l'équipe avec la formation aux analyses non-supervisées de 3 ingénieurs, d'une post-doctorante et d'un doctorant, sur des projets avec des panels de cytométrie à environ 30 paramètres, sur différents types de matériel biologique : PBMC humains, tumeurs humaines, foie et rein de souris dissociés.

Une collaboration a débuté avec le Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques (LNEC-INSERM U1084), pour lequel des marquages ont été réalisés sur extrait de cerveau de souris adultes, avec 6 marqueurs d'identification des stades de différenciation des oligodendrocytes. L'utilisation des outils de réduction de dimension et de clustering hiérarchique (avec OMIQ) pour identifier sans a priori les différentes sous-populations d'oligodendrocytes est en cours.

Pour terminer, je tiens à remercier le Dr. Nicolas DEGAUQUE pour son accueil chaleureux et le temps qu'il m'a accordé, ainsi que les membres du bureau de l'AFC pour m'avoir accordé cette bourse de mobilité.

La bénéficiaire

Alice BARBARIN

Le tuteur

Nicolas DEGAUQUE