

**Commission Recherche – Formulaire de demande
Programme d'Investissement pour la Recherche**

Porteur/porteuse de la demande

Prénom et NOM	Cyril REBOUL
Statut (MCF, PR...)	MCF
Employeur	Avignon Université
Laboratoire	LaPEC

Equipement / matériel

Intitulé	Microscope inversé à fluorescence
Fournisseur(s) envisagé(s)	Leica
Prix d'acquisition	41 k€
Montant demandé à la Commission Recherche	41 k€

Description des équipements souhaités et contexte de la demande

Le Laboratoire de recherche LaPEC de l'université d'Avignon est reconnu pour son étude de la réponse du système cardiovasculaire à l'exercice. Une des originalités du LaPEC au niveau national est de s'appuyer sur une approche translationnelle de l'impact de stratégies prophylactiques (exercice physique, nutrition) sur le développement de pathologies cardiovasculaires. En effet, le LaPEC a pu développer des approches directement sur l'humain, autorisant une approche physiologique intégrée et directement applicable en clinique ou sur le terrain, mais aussi une approche plus expérimentale sur des rongeurs. Plus récemment, des approches à l'échelle cellulaire ont pu être développées et se révèlent comme étant riches en résultats scientifiques novateurs. Enfin, depuis notre emménagement sur le site INRAE d'Avignon, le LaPEC a intensifié ses études au niveau cellulaire en couplant deux approches complémentaires. Une première approche est basée sur l'étude d'isolement primaire de cellules non cultivables tel que les cardiomyocytes (cellules musculaires du cœur) ou les cellules musculaires lisses d'artères, permettant à partir de cœurs ou d'artères isolées de différents modèles animaux (rats, souris) de travailler à l'échelle cellulaire et ainsi d'étudier l'impact de modifications phénotypiques sur la signalisation cellulaire. Cette approche, maintenant bien développée au laboratoire peut s'appuyer à la fois sur le matériel propre du LaPEC (microscope fluorescent, lecteur de microplaque) mais aussi sur le matériel de la plateforme 3A (microscope confocale). Cette approche a notamment permis récemment la publication d'un article dans une revue de référence dans le domaine de la recherche fondamentale en cardiologie (Basic Research in Cardiology, dans le top 10 des journaux scientifiques du domaine ; Impact Factor : 17) et l'obtention d'une ANR (ANR NitrosoCard). Une autre approche, qui constitue une alternative intéressante à l'expérimentation animale et est donc de plus en plus utilisée au laboratoire, est basée sur l'utilisation de lignées de cellules humaines immortalisées mises en culture et permettant d'étudier les effets de différentes stratégies de protection sur les fonctions

Ce formulaire est à envoyer par courrier à l'adresse aap-recherche@univ-avignon.fr, accompagné des devis correspondants

cellulaires et leurs survies. Cette approche prend une ampleur de plus en plus importante au sein du laboratoire LaPEC. En effet, cette approche constitue une bonne alternative à l'expérimentation animale et permet en obtenant des résultats préliminaires de limiter l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques. Dans ce sens, notre technicienne de laboratoire (Sandrine Gayrard) a pu suivre récemment une formation (CNRS Formation) à l'institut Neuromyogène à Lyon afin d'améliorer ses compétences dans ce domaine. Néanmoins, la culture de lignée de cellules humaines immortalisées nécessite des conditions de travail particulières afin d'éviter les contaminations par des pathogènes extérieurs. Or, à ce jour, le laboratoire LaPEC ne disposant que d'un seul microscope inversé à fluorescence, les cellules en cultures doivent être imagées dans la même zone de travail que les cellules issues d'isolement primaire. Ceci a eu comme conséquence de nombreuses contaminations des cultures cellulaires et du laboratoire de culture cellulaire, obligeant les chercheurs à se débarrasser de toutes les cultures en cours afin de stériliser le laboratoire, le poste de sécurité microbiologique et l'incubateur. Ceci a donc un coût financier et temporel non négligeable pour les expérimentations en cours. La solution qui permettrait de limiter voire éviter ce type de contamination serait l'investissement dans un deuxième microscope inversé fluorescent (environ 41k€) permettant d'en placer un à demeure dans le laboratoire de culture cellulaire et ainsi d'éviter les contaminations croisées.

Ainsi, le laboratoire demande une aide à Avignon Université afin de pouvoir s'équiper de ce matériel qui lui permettra de continuer à développer des approches pointues à l'étage cellulaire aussi bien sur des isolements primaires de cellules que sur des lignées de cellules humaines immortalisées. Cet investissement permettra de placer à demeure le microscope inversé fluorescent actuel (étudié pour pouvoir être placé dans un poste de sécurité microbiologique) dans la salle de culture cellulaire et de pouvoir bénéficier d'un autre microscope inversé fluorescent plus facilement accessible.

Potentiel d'utilisation au sein de l'unité / potentiel de mutualisation avec d'autres unités

Ce matériel sera utilisé par les chercheurs du LaPEC afin de suivre et étudier des phénomènes biologiques à l'échelle de cellules vivantes. Ce matériel pourra aussi être utilisé par des chercheurs des laboratoires voisins (SQPOV et PSH en particulier) partenaires du LAPEC ou d'autres laboratoires de l'université dans des projets sur la valeur santé des fruits. En effet plusieurs études sur la qualité et la valeur santé des fruits s'intéressent à l'impact des conditions de production sur des composantes cellulaires (taille et nombre de cellules, densité de parois) et subcellulaires (densité de plastides et fluorescence de la chlorophylle en lien avec la teneur en caroténoïdes). Les observations se font sur des coupes de tissus frais issus de fruits produits en serre et le transport vers la

Ce formulaire est à envoyer par courrier à l'adresse aap-recherche@univ-avignon.fr, accompagné des devis correspondants

plateforme de Saint Maurice pose souvent des problèmes de logistique. Ce matériel ne pourra pas remplacer les performances du microscope confocal inversé de la Ptf3A, mais ce dernier étant sur le site St Maurice de INRAE, l'achat de ce nouveau microscope inversé à fluorescence pourra constituer un bon complément sur le site Agrosiences/St Paul pour une partie des observations. En effet, les autres microscopes potentiellement accessibles de ce site (UFR STS Agroparc, site INRAE stPaul) sont des microscopes droits ne permettant pas le travail sur des cellules vivantes en culture.

Retombées attendues pour l'unité et Avignon Université

L'achat de ce matériel permettra de renforcer les compétences du LaPEC dans l'exploration de la biologie cellulaire et dans le développement de modèles sur des lignées de cellules humaines immortalisées. Cette approche constitue un véritable plus afin de mieux comprendre des processus biologiques complexes mais aussi afin de réduire l'utilisation de modèles animaux. En effet, la réglementation sur l'utilisation des animaux à des fins scientifiques est de plus en plus stricte et fait de plus en plus appel, en accord avec la règle des 3R (réduire, raffiner, remplacer), à l'obtention de résultats préliminaires sur des modèles cellulaires avant l'utilisation de modèles animaux (réduire et remplacer). Certaines sociétés spécialisées dans la nutraceutique avec lesquelles le laboratoire LaPEC est en collaboration sont particulièrement sensibles à ce sujet (exemple : thèse cifre avec la société Algama). Cette acquisition devrait donc permettre au LaPEC et à l'Université d'Avignon de continuer leur effort du respect des règles éthiques concernant l'utilisation des animaux à des fins scientifiques tout en maintenant une activité scientifique de haut niveau. Ce matériel permettra ainsi au laboratoire de rester compétitif dans le domaine de la biologie cellulaire en continuant à publier dans les meilleures revues du domaine.

Précisions sur le budget d'acquisition des équipements

Fournisseur(s) envisagé(s), prix des différents éléments (joindre les devis correspondants)

Idéalement, ce microscope pourrait être acheté chez le fournisseur Leica, afin de pouvoir utiliser le même logiciel d'analyse entre le microscope confocal et celui-ci. Ce fournisseur est de plus référencé par l'UGAP (Union des groupements d'achat publique, cf devis). Néanmoins, des tests seront réalisés avec d'autres fournisseurs afin de pouvoir acheter le matériel correspondant le mieux à nos attentes (Zeiss, Olympus).

Le devis UGAP d'un microscope inversé à fluorescence Leica est présenté en annexe.

Ce formulaire est à envoyer par courrier à l'adresse aap-recherche@univ-avignon.fr, accompagné des devis correspondants

**Commission Recherche – Formulaire de demande
Programme d'Investissement pour la Recherche**

Estimation des coûts de fonctionnement engendrés par l'exploitation des équipements

Les couts de fonctionnement liés à ce type de matériel peuvent être supportés à 100% par les équipes utilisant le matériel (sondes fluorescentes, LED). Par ailleurs, l'achat de ce deuxième microscope devrait permettre, en limitant les contaminations croisées des cultures de cellules, de réduire les couts liés à ce type de problèmes.

Estimation des dépenses qui doivent être engagées pour la réalisation de l'investissement (frais de publicité, aménagements nécessaires) le cas échéant

Aucune

Remarques

Toute autre information que vous souhaiteriez porter à la connaissance des membres de la Commission Recherche concernant la présente demande

Avis motivé de la direction de l'unité de recherche ou de la SFR/FR concernée

Avis direction du LaPEC (Agnes VINET) :

Le LaPEC développe de plus en plus de projets utilisant la culture cellulaire. Cet achat permettra de limiter au maximum les contaminations cellulaires et ainsi de garantir des résultats valides. Avis très favorable



Avis UR INRAE PSH / Directrice adjointe SFR Tersys (Nadia BERTIN) : Cet achat sera très utile aux projets collaboratifs entre INRAE et AU dans le cadre de la SFR Tersys. Avis très favorable.



Avis référente plateau technique de microscopie de la Ptf3A (Isabelle BORNARD) :

Un appareil de ce type serait très complémentaire aux autres microscopes présents sur la plateforme de microscopie 3A. Avis très favorable.



Ce formulaire est à envoyer par courrier à l'adresse aap-recherche@univ-avignon.fr, accompagné des devis correspondants