

INGENIEUR(E) DE RECHERCHE (CDD 1 an renouvelable)

Quatre plateformes d'imagerie cellulaire et tissulaire de l'axe bio-imagerie de Biogenouest dont les plateformes MRIC, H2P2 et MicroPicell du noeud Bretagne Loire FBI et la plateforme APEX membre de l'infrastructure NeurATRIS, recrutent un Ingénieur de Recherche Mutualisé dans l'objectif de développer un projet stratégique commun: en microscopie pour le préclinique.

Annuaire Plateformes BGO : <https://www.biogenouest.org/plates-formes/>

Site FBI : <https://france-bioimaging.org/>

Site NeurATRIS : <https://www.neurattris.com>

Libellé de l'emploi : Ingénieur de recherche en expérimentation et instrumentation biologique

Description de la mission

L'ingénieur de recherche en expérimentation et instrumentation biologiques développe et conduit en spécialiste les investigations de modèles cellulaires 3D dans le cadre de 3 projets pilotes en utilisant des approches multi échelle/multimodales d'imagerie développées sur les 3 plateformes du noeud bretagne loire de FBI (MRic et H2P2 à Rennes, MicroPicell à Nantes) et la plateforme APEX de Neurattris (Nantes), en pleine collaboration avec les ingénieurs des 4 sites et des équipes de recherche initiatrices des projets. A travers ces projets preuve de concept, l'objectif est de construire une offre de service mutualisée sur tout le noeud Bretagne-Loire en microscopie pour le pré-clinique

Environnement et contexte de travail

Description des projets:

1- L'équipe de Grégoire Michaux (IGDR Rennes) s'intéresse au maintien de la polarité des cellules épithéliales constitutives de l'intestin dans le modèle C-elegans. Il utilise les méthodes de microscopie de fluorescence super-résolues (Airyscan principalement) adapté au vivant pour caractériser l'organisation des microvilosités à l'échelle de 100nm ainsi que des méthodes de microscopie électronique plus résolutive sur échantillon fixé. Ces dernières sont aussi adaptables à des échantillons humains, en particulier dans le contexte de maladies intestinales orphelines. Ces méthodes utilisent les pf MRic et H2P2 à Rennes. Maxime Mahé (UMR_S 1235 Nantes) de son côté développe des modèles organoïdes dérivés de cellules souches pour comprendre l'organisation intestinal dans le contexte des maladies gastrointestinales. Il s'intéresse aussi à caractériser des échantillons épais en 3D issues de biopsie et notamment avec des techniques sans marquages en DFF-OCT sur tissu vivant aqueux. Ces techniques sont développées en collaboration avec la plateforme MicroPicell. Ces deux projets sont très semblables dans l'objectif de comprendre le lien entre physiologie et identité cellulaire et leurs conséquences dans l'intégrité intestinale et les pathologies avec des méthodes et des modèles très complémentaires. Il s'agira ici de venir faire preuve de concept de l'intérêt des approches multimodèles et multimodales dans la caractérisation de l'organisation tridimensionnelle du tissu intestinal.

Ce que l'ingénieur fera : Complémentarité entre DFF-OCT (Micropicell) et Raman (H2P2). Regarder sans marquage avec spectral et harmonique (Apex), brisure d'orthogonalité (MRic). Microscopie électronique TEM (MRic). Multi-modèle : vivant/fixé, C-elegans, organoïdes, tissus.

2- Le mélanome cutané résulte de la transformation maligne des mélanocytes, cellules cutanées spécialisées dans la production de pigments. Le mélanome cutané est la forme la plus meurtrière de cancer de la peau. Environ la moitié des patients diagnostiqués avec un mélanome métastatique portent la mutation V600E de la kinase BRAF. Cette altération conduit à l'activation constitutive de cette kinase, et donc à l'activation de la voie MAPK, se traduisant par

une croissance cellulaire incontrôlée. Les patients porteurs d'une telle mutation sont traités avec des inhibiteurs de BRAF (BRAFi) associés à des inhibiteurs de MEK (MEKi). Ces traitements conduisent à une réponse à court terme impressionnante mais la majorité des patients développent une résistance conduisant à la rechute après une médiane d'environ 5 à 7 mois, conduisant finalement au décès du patient.

L'équipe de Marie-Dominique Galibert (IGDR Rennes) avec le travail de Sébastien Corre a récemment impliqué le facteur de transcription Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) dans l'acquisition de la résistance lors du traitement du mélanome par BRAFi. L'activation canonique d'AhR induit un programme d'expression associé à l'état résistant/dédifférencié/invasif des cellules de mélanome. A l'inverse, le facteur de transcription MITF est associé à un état différencié/prolifératif et sensible aux BRAFi.

Le projet cherche à corréliser le niveau d'expression et d'activité de ces deux facteurs de transcription dans le mélanome en relation avec les signaux de l'environnement tumoral au cours de l'acquisition de la résistance aux BRAFi. Pour cela, nous envisageons une étude à partir de modèle de sphéroïdes à partir de modèles cellulaires sensibles ou résistants aux BRAFi de mélanomes, invalidés ou non pour AhR/MITF pour visualiser au sein de modèle 3D cellulaire les variations d'expression des facteurs de transcription en relation avec les changements phénotypiques et en lien avec les signaux de l'environnement. Pour cela, nous envisageons d'utiliser différents modèles de sphéroïdes en coculture avec des CAF (Cancer Associated Fibroblasts) pour déterminer par microscopie les niveaux d'expression et la localisation des facteurs AhR/MITF au sein de la tumeur. Ces modèles doivent également permettre d'identifier *in vitro* des voies pour moduler AhR et MITF et ainsi contrôler le phénotype tumoral (inhibition de l'invasion).

Le rôle majeur du niveau d'expression de ces deux facteurs sera également étudié à partir d'échantillon de patients (IHC) sensibles ou résistants aux BRAFi en tant que facteur pronostic de la réponse aux BRAFi.

Ce que fera le projet lui-même : marquage protéine AhR et MITF, histopathologie classique, reconstruction 3D et organisation tissulaire et organoïde, investigation hypoxie sans marquage dans les organoïdes cœur vs périphérie (Raman)

Ce que mènera l'ingénieur : imagerie corrélative 3D d'organoïdes entre marquage pour phénotypage cellulaire (avec modalités transparisation + light sheet) et modalités sans marquage (raman, DFF-OCT, non-linéaire, autofluo + FLIM, TEM, brisure d'orthogonalité), reconstruction tissulaire 3D issue de coupes de qqz centaines de microns pour la même imagerie corrélative. Caractérisation anatomo-pathologique d'organoïdes pour la pertinence du modèle (lien APEX/H2P2).

3- L'équipe de Karl Rouger développe une stratégie de thérapie cellulaire des pathologies musculaires à l'UMR703 (Oniris INRAE Nantes). La considération croissante de la notion d'incidence du micro-environnement au sens large (*in vitro* et *in vivo*) sur le comportement cellulaire se traduit par le développement d'approches d'ingénierie pour proposer de nouveaux dispositifs afin de potentialiser leurs effets comme c'est le cas par exemple des hydrogels de plus en plus utilisés pour limiter la mortalité excessive post-administration et exploiter la fonction paracrine. Face à la complexification des protocoles de préparation cellulaire post administration et au besoin d'accroître le niveau de connaissances sur les modalités d'action des conditions environnementales, l'utilisation combinée des derniers développements en bio-imagerie pour le phénotypage cellulaire (2D, 3D) et tissulaire (3D avec le procédé de transparisation et l'exploitation de la feuille de lumière mais aussi le multiplexage) fait sens.

L'expertise complémentaire des plateformes du nœud FBI Bretagne Loire permettra une exploration multi approches de ces cultures cellulaires 3D de types sphéroïdes. La caractérisation de culture cellulaire 3D (survie cellulaire phenotype *in vitro* *in vivo*) en fonction des conditions environnementales (encapsulation matrice hydrogel concentration cellulaire) pour l'optimisation de la préparation des candidats cellulaires thérapeutiques en médecine régénérative:

Ce que fera le projet lui-même, l'imagerie en profondeur (Multiphoton, l'imagerie multispectrale, confocale en mode hypoxique, l'expertise en anatomie-pathologique.

Ce que l'ingénieur fera : l'exploration fonctionnelle via l'imagerie calcique (MicroPicell), le développement et l'imagerie de biosenseurs (MRic), l'imagerie 3D en feuille de lumière (MicroPicell, MRic), l'imagerie sans marquage (chimique Raman sur fixé (H2P2)^o, Vibrationsnelles DFF-OCT sur vivant, non linéaire et multispectral (APEX)).

Activités principales

Faire le lien entre les PFs et les équipes de recherche impliquées dans les projets sélectionnés

Gérer et conduire des projets déjà initiés par des équipes de recherche via les techniques complémentaires et innovantes des PFs.

Proposer, développer des méthodes de préparation des échantillons adaptées aux technologies d'acquisition en tenant compte des contraintes associées.

Choisir les approches les plus pertinentes et complémentaires développées par les PFs pour avoir une analyse exhaustive des échantillons biologiques

S'assurer de l'intérêt des approches en concertation avec les équipes de recherche.

Traiter et interpréter les images de microscopie avec l'appui des experts des PFs et des scientifiques collaborateurs

Participer à l'exploitation, la communication et valorisation des résultats.

Compétences

- Communiquer et gérer les relations avec les ingénieurs des PFs et les équipes de recherche porteuses des projets
- biologiste de formation, avoir des connaissances approfondies en biologie cellulaire et tissulaire
- savoir mener un projet et comprendre les enjeux biologiques et les contraintes associés au projet
- avoir des compétences de manipulation des échantillons tissus/cellules et préparation des échantillons pour la microscopie
- avoir une forte appétence pour la microscopie et des compétences générales en optique sans connaître toutes les techniques d'imagerie spécifiques (domaine d'expertise des Pfs)
- avoir des notions de traitement d'image pour l'analyse quantitative des contrastes et la reconstruction tridimensionnelle,

Capacités personnelles

Rigueur et autonomie dans la gestion des projets

- Prises d'initiatives et sens de l'organisation
- Sens de la communication, curiosité
- Dynamisme, motivation, mobilité

Diplôme requis

Doctorat es Sciences ou diplôme d'ingénieur

Lieu de travail

Contraintes et spécificités : mobilité sur les 4 plateformes de Nantes et Rennes. Pour le besoin du projet, la personne sera formée par les ingénieurs des différentes plateformes. Elle s'appuiera sur les équipes de recherche des différents projets.

Contacts :

Marc Tramier, coordinateur du nœud Bretagne Loire de FBI, marc.tramier@univ-rennes1.fr.

Pour candidater envoyer lettre, CV et références avant le 2 mai 2021