

## FICHE PROJET EUROPEEN

ACRONYME : CYTOSPECSORTER

NOM COMPLET DU PROJET	Normandie Recherche - Plateforme 2024 - CytoSpecSorter		
NUMERO DE CONVENTION	00156995		
DATE DE DEBUT	01/11/2024		
DATE DE FIN	31/10/2026		
COORDINATEURS	Sophie CANDON		
Etablissement(s)	Laboratoire(s)	Responsable(s)	Partenaire(s)
URN	CYFLOW	Sophie CANDON	
CONTACT	<a href="mailto:Sophie.candon@univ-rouen.fr">Sophie.candon@univ-rouen.fr</a>		
SITE INTERNET DU LABORATOIRE ET PROJET			

### DESCRIPTION DU PROJET

RESUME	Achats d'équipements pour la Plateforme CYFLOW de l'Université de Rouen Normandie
OBJECTIFS	<p>Les trieurs cellulaires spectraux de dernière génération offrent des performances de tri cellulaire multiparamétrique non égalées par les cytomètres conventionnels. L'acquisition d'un trieur cellulaire spectral, qui viendra renouveler le trieur cellulaire conventionnel vieillissant du service commun CyFlow, vise à répondre aux besoins actuels et futurs des laboratoires de recherche en matière de tri cellulaire. Elle permettra de mettre à disposition de la communauté scientifique normande une technologie innovante encore non disponible en Normandie. L'objectif principal est de maintenir l'offre de CyFlow à un niveau compétitif par rapport aux plateformes de cytométrie françaises, favorisant ainsi l'excellence de la recherche normande.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Le développement d'applications liées à des performances spécifiques du tri cellulaire spectral donnera l'opportunité à des équipes de recherche normandes d'isoler des populations cellulaires préalablement caractérisés phénotypiquement par le cytomètre spectral ID7000 disponible depuis fin 2022.</li> <li>• Jusqu'à présent, les tris cellulaires à l'aide du trieur ARIA étaient exclusivement réalisés par l'ingénieur opérationnel de CyFlow. Les trieurs de dernière génération se caractérisent par l'automatisation de plusieurs processus critiques, en particulier la calibration du fractionnement du flux de tri en gouttelettes et la déviation de ces gouttelettes vers les différentes sorties de tri. Ces évolutions permettront désormais de proposer une utilisation en semi-autonomie (après formation) par les utilisateurs.</li> <li>• Le déploiement du premier trieur cellulaire spectral en Normandie donnera l'opportunité d'établir de nouvelles collaborations ou conventions de prestations avec des partenaires académiques ou privés.</li> </ul>



RÉGION  
NORMANDIE



UNION EUROPEENNE

<p>Caractère innovant de l'opération :</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le tri cellulaire permet l'isolement multiparamétrique de populations cellulaires marquées à l'aide d'anticorps conjugués à des fluorochromes dont l'émission de fluorescence est induite par excitation à l'aide de sources lasers. A l'aide d'un système de miroirs et de filtres dichroïques orientant la fluorescence émise vers un nombre limité de détecteurs dédiés, les trieurs conventionnels analysent en temps réel une plage restreinte du spectre d'émission de chaque fluorochrome avant de procéder au tri cellulaire de la ou des populations d'intérêt. Au sortir de la chambre d'analyse, l'automate magnétise le flux via une impulsion électromagnétique puis transforme ce flux en gouttelettes contenant chacune une cellule via une buse spéciale (choisie en fonction de la taille des cellules à trier) afin de pouvoir les dévier par des déflecteurs chargés soit positivement soit négativement. Les gouttelettes/cellules ainsi déviées terminent leur course dans un des tubes prévus à leur collection (possibilité de répartir les cellules d'intérêt en 2 à 6 tubes selon la buse utilisée voire de déposer une cellule par puits en plaque 96 puits) ou dans le collecteur d'évacuation. Actuellement, pour les trieurs conventionnels d'ancienne génération, tels que l'ARIA dont dispose CyFlow, ce processus nécessite une grande expertise notamment pour la calibration du flux de gouttelettes, du délai de tri et de l'ajustement du flux latéral. Cette expertise nécessite des compétences d'ingénieur ce qui constitue un frein à l'utilisation de ce type de trieurs (mobilisation du responsable opérationnel).</li> <li>• A l'inverse, les trieurs cellulaires spectraux de dernière génération permettent à l'utilisateur de calibrer de façon intuitive les paramètres de tri cellulaire voire d'automatiser les configurations. De plus, ces automates permettent, après dispersion de la fluorescence émise, la détection de l'intégralité du spectre d'émission de chaque fluorochrome à l'aide de 67 à 182 détecteurs. A partir de l'empreinte spectrale d'un échantillon cellulaire multimarqué, un algorithme de déconvolution permet de déduire l'intensité de fluorescence de chaque fluorochrome. Cette technologie permet d'augmenter considérablement le nombre de fluorochromes et paramètres analysables (plus de 40) par rapport au tri cellulaire conventionnel. Il est de plus possible d'utiliser simultanément des fluorochromes de spectres d'émission proches non discriminés en tri cellulaire conventionnel, ouvrant la voie à des combinaisons inédites. L'autofluorescence élevée de certains types cellulaires (levures, cellules tumorales) peut être soustraite améliorant ainsi le niveau de résolution de leur analyse. L'autofluorescence de certains types cellulaires (macrophages alvéolaires, cardiomyocytes) peut également être utilisée comme une donnée de fluorescence propre supplémentaire, avec un spectre d'émission spécifique aux cellules d'un échantillon non marqué. Grâce à cette gestion de l'autofluorescence, le tri cellulaire spectral est une technique de choix pour l'isolement des événements rares (&lt;0.01%), contrairement au tri cellulaire conventionnel, qui ne permet pas de différencier ces événements d'artefacts liés à la combinaison de fluorochromes utilisés et/ou à l'autofluorescence des échantillons. Ceci trouve de multiples applications en immunologie et dans d'autres champs disciplinaires (neurologie, maladies cardiovasculaires, ...) en particulier pour l'isolement et l'étude de populations cellulaires rares au sein de suspensions cellulaires complexes.</li> <li>• Le trieur cellulaire spectral viendra en renouvellement du trieur vieillissant Aria – BD Biosciences. Cet automate trouvera sa complémentarité avec le parc existant de cytomètres de CyFlow : Il est attendu que l'activité réalisée sur le trieur cellulaire Aria soit progressivement transférée sur le trieur cellulaire spectral, en raison de son opérationnalité et de sa facilité d'utilisation.</li> </ul>
<p>RESULTATS</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pour l'équipe de recherche : <ul style="list-style-type: none"> <li>- levée de verrou de différents projets : tri multiparamétrique de populations cellulaires de phénotypes simples ou complexes et/ou de populations cellulaires rares</li> <li>- facilité d'utilisation des automates de tri cellulaire de nouvelle génération permettant une utilisation en autonomie après une formation assurée en interne.</li> </ul> </li> <li>• pour les prestataires extérieurs : <ul style="list-style-type: none"> <li>- mise à disposition d'un équipement de tri cellulaire de dernière génération dont le déploiement national est restreint.</li> <li>- mise à disposition de l'expertise de CyFlow en matière de tri cellulaire de dernière génération pour la caractérisation d'échantillons humains, animaux, et végétaux.</li> </ul> </li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>pour le territoire : - déploiement du premier trieur cellulaire spectral en Normandie et amélioration de son attractivité</li> </ul>
<b>MODALITES DE FINANCEMENT</b>	BUDGET TOTAL : 600 000€
<i>Niveau de soutien FEDER / FSE / FAEDER</i>	360 000€
<i>Niveau de soutien région</i>	240 000€
<i>Niveau de Soutien Etat-CPER2021/2027</i>	
<b>L'Europe s'engage en Normandie avec le Fonds Européen de Développement Régional</b>	