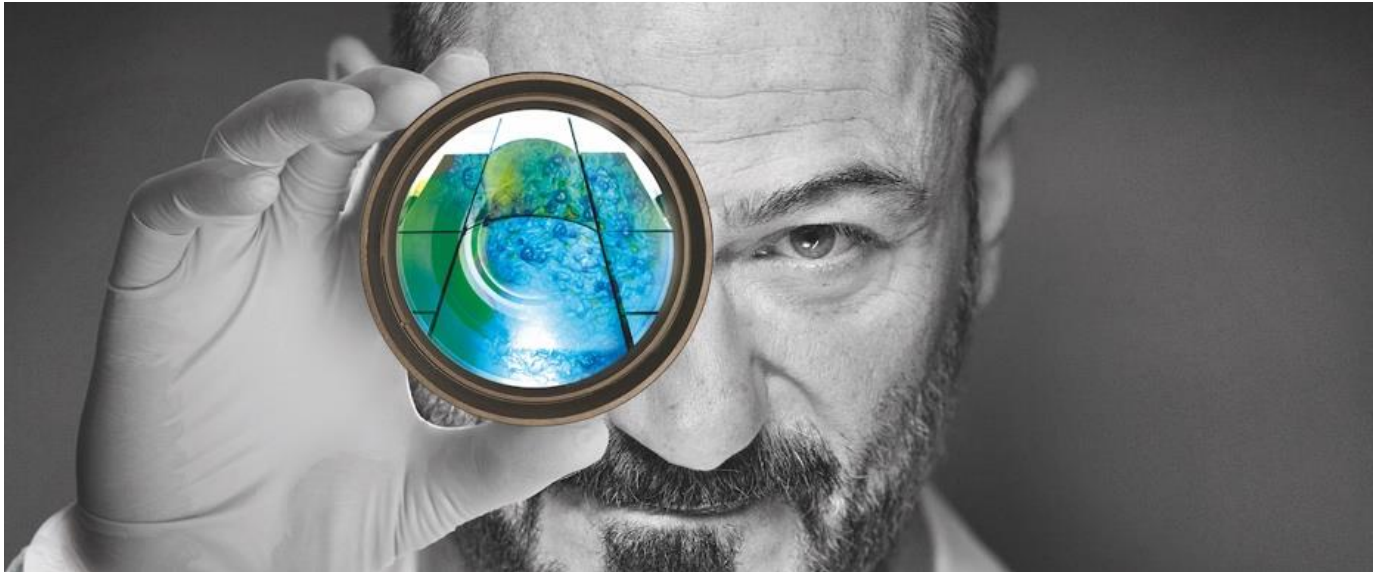


12 JUILLET 2018

Dossier de **presse**

Avec Titan Krios™, l'Institut Pasteur au plus près du vivant

Le chercheur Jean-Claude Manuguerra.
© Olivier Roller - Maxyma

Doté de capacités hors norme, le nouveau Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM) de l'Institut Pasteur est un microscope électronique de pointe signé Thermo Fisher Scientific. Il est inauguré ce jour, le 12 juillet 2018. Virus, composants d'une cellule, ou encore complexes de protéines, toutes ces structures et ces phénomènes biologiques pourront être visualisés avec un niveau de détails jusqu'ici inégalé. Le système de microscopie Titan Krios™ facilite ainsi l'observation, en très haute résolution, des échantillons les plus fragiles au plus près de leurs conditions naturelles, grâce notamment à la préparation de ces échantillons à l'aide de techniques cryogéniques. Associée à une caméra ultraperformante, l'imagerie en conditions cryogéniques permet des rendus en trois dimensions d'une précision inédite. Avec le système Titan Krios™, l'Institut Pasteur dote ses chercheurs d'un outil d'une puissance extraordinaire pour observer les cellules au plus près du vivant.

Haut de près de 4 mètres, le système Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM) installé au sein de l'Institut Pasteur est, au niveau mondial, l'un des plus grands et plus puissants

microscopes disponibles sur le marché implanté en ville. Pour accueillir cet équipement et assurer son utilisation optimale, il a fallu créer un bâtiment dédié avec la prise en compte d'un certain nombre de contraintes : champs électromagnétiques, température, taux d'humidité, vibration et source d'azote constants.

Ainsi, l'emplacement et la structure du bâtiment Nocard ont été méticuleusement pensés : il possède son propre système d'aération pour garantir un environnement stable ; les murs intérieurs sont blindés pour échapper à tous champs magnétiques provenant de l'extérieur (métro, téléphones portables, wifi).

Olivier Schwartz, directeur scientifique de l'Institut Pasteur, déclare : « *L'arrivée de ce microscope hors normes est un événement scientifique majeur pour les équipes de l'Institut Pasteur. Nous sommes tous très impatients de découvrir toutes les capacités de Titan Krios™, d'enrichir nos connaissances, et plus globalement celles de la communauté scientifique et médicale grâce aux données et aux images générées.* »

L'Institut Pasteur a relevé un vrai défi pour installer ce microscope en milieu urbain, afin de faire progresser la recherche dans des domaines comme les maladies neurodégénératives, les agents pathogènes et les cancers.

« *La cryo-microscopie électronique a transformé l'approche des chercheurs vis-à-vis des maladies neurodégénératives, des agents pathogènes et des cancers en leur proposant une vision inédite des structures des protéines et une meilleure compréhension du développement des maladies* », souligne Mike Shafer, Président Materials and Structural Analysis chez Thermo Fisher. « *Nous saluons la position de l'Institut Pasteur à la pointe de l'innovation. L'installation de notre Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM) au sein de ses locaux est un témoignage de plus de sa volonté de faire avancer la recherche dans ces disciplines et bien d'autres.* »

TITAN KRIOS™ : QU'EST-CE QUI LE REND SI SPECIAL ?

Équipé d'une caméra ultrasophistiquée pour détecter directement le flux d'électrons qu'il émet, Titan Krios™ offre aux chercheurs une vision à l'échelle atomique (un dixième de nanomètre). Cette échelle permet de distinguer de nombreux détails invisibles à partir d'un microscope électronique classique. Les chercheurs acquièrent ainsi la capacité de caractériser la structure des protéines mais aussi d'étudier leurs interactions dans leur environnement naturel.

Quelques repères

A l'œil nu, un être humain peut distinguer un détail d'environ 1 millimètre à une distance de 3 mètres.

Titan Krios™ permet aujourd'hui de grossir un objet des millions de fois (contre un grossissement x10 pour les premiers microscopes).

Ces connaissances seront d'un apport essentiel pour la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans les maladies et pour le développement de traitements ciblés. Plus largement, elles seront utiles pour de nombreux spécialistes des différentes disciplines : immunologie, biologie cellulaire, bactériologie, virologie, parasitologie ou encore neurosciences.

Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM) : ce « cryo-microscope » à très haute résolution ressemble à une grande armoire de plus de 4 mètres de haut, reliée à des ordinateurs analysant et restituant les images. Ici, à l'Institut Pasteur, dans le nouveau bâtiment Nocard. © François Gardy – Institut Pasteur



Conçu par Thermo Fisher Scientific, le premier Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM) a vu le jour en février 2008. Il a été développé en collaboration avec le *Max Planck Institute of Biochemistry* en Allemagne. Grâce à ses récentes avancées, tant en matière de conception que de matériel d'imagerie, et à ses améliorations en termes de traitement des images et d'automatisation, Titan Krios™ a contribué au succès fulgurant de la cryo-microscopie, une technique qui a été récompensée par le Prix Nobel de chimie 2017.

La cryo-microscopie électronique est une technique impliquant le refroidissement d'un échantillon à une température cryogénique (en deçà de $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$), ce qui représente pour les chercheurs l'opportunité de créer des images 3D des protéines et virus impossibles à obtenir par une autre méthode. Comprendre la structure des virus et des protéines aide à déterminer leur fonctionnement, et peut ainsi conduire à élaborer des stratégies de prévention ou de traitement des maladies dont ils sont responsables. La connaissance du mode de pénétration et d'infection d'une cellule par le VIH ou bien, dans le cas d'une maladie neurodégénérative, la compréhension de la manière dont une protéine tau s'agrège et forme des plaques dans le cerveau, facilitent le développement de médicaments à des fins préventives.

PRESERVER L'ENVIRONNEMENT NATUREL PAR CRYOGENISATION

Le système Titan Krios™ dispose d'un atout précieux pour étudier les échantillons dans des conditions d'observation optimale et freiner leur dénaturation : ceux-ci sont surgelés à $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ en vue de les préserver dans leur environnement naturel.

Pour ce faire, le microscope utilise la technique de la cryo-microscopie électronique en transmission (cryo-MET) apparue au milieu des années 80. La cryo-MET consiste à congeler très rapidement un échantillon biologique afin de le piéger dans une mince couche de glace amorphe, puis de l'observer à l'aide d'un microscope électronique adapté. L'échantillon congelé est maintenu à une température très basse au sein du microscope électronique et des images sont enregistrées sous des doses d'électrons extrêmement faibles afin de ne pas l'endommager.

Auparavant, pour déterminer la structure d'une molécule, celle-ci devait être isolée puis cristallisée grâce à un procédé parfois long, et qui pouvait entraîner la dénaturation des protéines trop fragiles ou trop instables. En particulier, cette méthode n'était pas adaptée à l'analyse de complexes moléculaires localisés dans les parois cellulaires, pourtant essentiels au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Aujourd'hui, avec le système Titan Krios™, les scientifiques parlent d'analyse de particules isolées (API) préparée par «

cryogénéisation » ou « vitrification », une technique qui garantit l'obtention d'une structure sans cristallisation du complexe d'intérêt.

En assurant une très grande stabilité à l'échantillon étudié, ce microscope, doté d'une caméra à détection directe d'électrons, rend possible l'acquisition automatique de milliers d'images. L'enregistrement haute vitesse d'images successives permet ainsi l'alignement de plusieurs clichés en vue de renforcer la netteté de l'image finale des protéines dans leur environnement cellulaire. Le système Titan Krios™ intègre ce mode « vidéo », qui a révolutionné la cryo-MET.

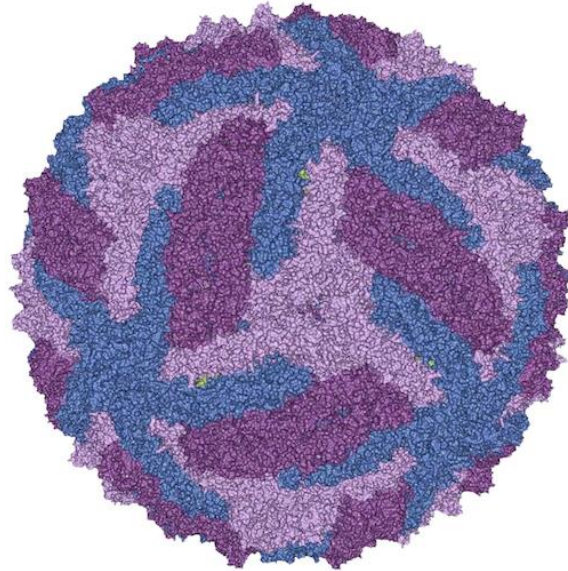


Image du virus Zika, reconstruite en 3D. Un des avantages de Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM) est de pouvoir réaliser des acquisitions longues (durée moyenne de deux à cinq jours pour une reconstruction à partir d'une multitude de clichés). Ces acquisitions permettent ainsi, par corrélations, d'obtenir une véritable image en 3 dimensions.
© National University of Singapore

LE MONDE MICROSCOPIQUE A L'ERE DU NUMERIQUE

Le système Titan Krios™ fait gagner un temps considérable aux chercheurs et leur permet d'étudier les éléments les plus fragiles, figés dans leur environnement cellulaire. De plus, Titan Krios™ est totalement numérique et automatisé : les chercheurs peuvent introduire plusieurs échantillons en même temps (jusqu'à 12) puis les observer successivement en un laps de temps bien plus court qu'avec les précédentes générations de microscopes, et générer ainsi une collection d'images indispensables à la compréhension de leurs travaux de recherche.

Avec la production de toutes ces données, ce microscope ouvre de nouvelles pistes de recherche, mais représente un défi de taille : le stockage de toutes les informations collectées. Du matériel informatique de pointe va ainsi être installé, afin de procéder au traitement et au stockage adéquat des données.



Comme l'explique Michael Nilges, responsable de l'unité de Bio-informatique structurale et directeur du département de Biologie structurale et chimie à l'Institut Pasteur, « Titan Krios™, c'est un demi téraoctet voire un téraoctet d'informations acquises par jour, ce qui peut représenter jusqu'à 400 To par an. Le défi est de pouvoir conserver toutes ces données afin que n'importe quel spécialiste en France puisse aller piocher dans cette formidable bibliothèque visuelle qui, je l'espère, permettra aux scientifiques de découvrir de nouveaux processus cellulaires et moléculaires, et de lever le voile sur une partie encore inexploree de la vie. »

DES EQUIPES EXPERTES AUTOUR DE TITAN KRIOS™

Un microscope d'une telle puissance exige des compétences très spécifiques dès son installation et dans son fonctionnement. Une nouvelle unité de recherche dédiée a donc été créée, dirigée par le Pr Dorit Hanein, chercheuse en Bioinformatique et biologie structurale à l'Institut de recherche médicale Sanford-Burnham (San Diego). Elle est aussi un des experts mondiaux de Titan et a supervisé son installation au sein de l'Institut Pasteur.



Le Pr Dorit Hanein explique : « *L'optimisation des performances de Titan Krios™ permettra de mettre ses puissantes capacités d'imagerie au service de l'analyse des divers échantillons des chercheurs de l'Institut Pasteur. Notre unité exploitera Titan Krios™ pour continuer à développer une plateforme technologique de pointe intégrant une grande quantité d'échelles, depuis le comportement cellulaire macroscopique jusqu'aux modifications structurales à haute résolution. Il s'agit d'une approche centrale dans mes recherches, qui visent à comprendre les processus responsables des maladies à tous*

les niveaux en abordant une problématique essentielle en biologie cellulaire : le mode d'utilisation, par les cellules, d'imposantes machines macromoléculaires dans les processus cellulaires. »

Les recherches de cette unité viseront à élucider les processus élémentaires de la vie, comme les assemblages de protéines ou bien la signalisation cellulaire. Un grand nombre d'agents pathogènes perturbent ces rouages pour assurer leur propre survie, leur invasion et leur propagation dans un organisme hôte. L'identification des mécanismes d'organisation de base de la matière vivante présentera donc un impact majeur pour les études d'une multitude de processus biologiques et de stratégies infectieuses.

Par ailleurs, de nombreuses autres équipes de l'Institut Pasteur bénéficieront de ce nouvel équipement, par exemple pour l'étude de l'intégration, dans des cellules hôtes, ou bien pour l'analyse de certains mécanismes liés à l'apparition de maladies neurodégénératives et de cancers.

LA SCIENCE AU PLUS PRES DU VIVANT

« *Le monde microscopique est magnifique !* », témoigne Olivier Schwartz, directeur scientifique de l'Institut Pasteur. « *Les images obtenues avec des microscopes permettent d'illustrer, voire de générer nos découvertes. Pour étudier les interactions entre les virus et les cellules de l'organisme, j'ai toujours utilisé différentes techniques de microscopie et assisté aux progrès gigantesques de ces dernières années, que ce soit en microscopie optique, optimale pour observer des cellules – ou en microscopie électronique, qui permet notamment de visualiser les virus.* »



Le chercheur poursuit : « Aujourd'hui, nous combinons la microscopie optique et la microscopie électronique à la manière de Google Maps : nous pouvons avoir une vue d'ensemble – voir des cellules infectées et non infectées par exemple – puis nous rapprocher des détails, de plus en plus fins, jusqu'à voir des particules virales sur la membrane d'une cellule. »

En plein développement à travers le monde, la « microscopie intégrative » consiste à combiner différentes méthodes de microscopie, et à faire interagir plusieurs disciplines (virologie, biologie cellulaire...) dont les travaux de recherche nécessitent la cryo-MET. L'ajout de Titan Krios™ à l'arsenal de technologies de l'Institut Pasteur renforcera par conséquent les collaborations dans les principales branches des sciences de la vie, au bénéfice des patients.

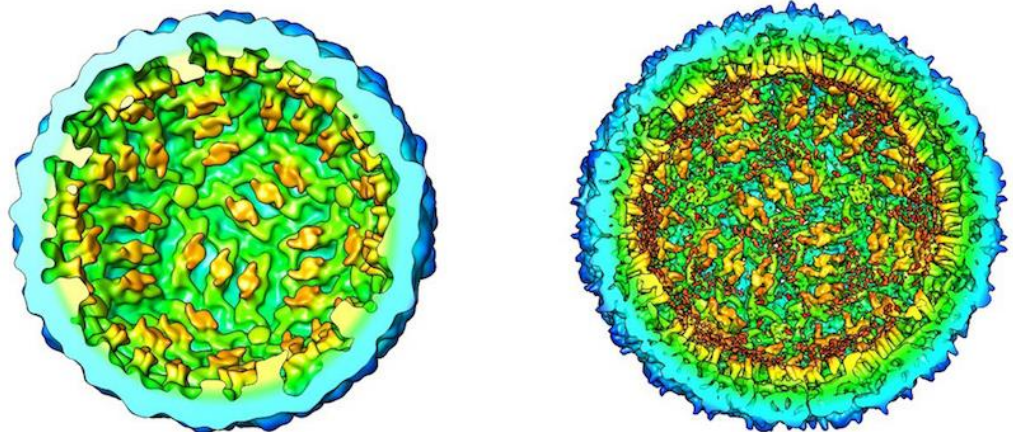
Grâce à Titan Krios™, les chercheurs pourront observer les cellules dans leur environnement naturel. Une métaphore, signée du professeur Dorit Hanein, explique bien ce phénomène.

Selon la chercheuse, « Titan offre, au travers de l'analyse computationnelle, une technologie performante pour s'approcher au plus près du vivant. Prenons l'exemple d'un nageur. Pour comprendre comment cette "machine" parvient à nager, il faut observer la manière dont en fonctionne chaque partie, seule et en interaction avec les autres parties, et en "visualiser" le résultat dans un océan surpeuplé. Étudier isolément le fonctionnement de chacune de ces parties peut s'avérer restrictif puisque leurs interactions avec les parties voisines influencent elles aussi les mouvements du nageur. Titan Krios™ nous permettra donc d'observer le vivant dans son propre environnement et son univers, faisant ainsi la lumière sur des réseaux et des comportements fondamentaux, au sens premier du terme. »

A gauche : Le virus de la dengue au microscope électronique classique.

A droite : Le virus de la dengue observé au microscope Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM).

© Institut Pasteur



UN PROJET DE GRANDE ENVERGURE

Depuis 2014, l'Institut Pasteur se propulse dans l'innovation avec différents projets pour favoriser des synergies et faire avancer la recherche scientifique. Offrir aux chercheurs la possibilité de voir les cellules dans leur environnement naturel, afin de mieux comprendre les processus moléculaires en jeu dans l'apparition de maladies, a été un de ces projets ambitieux (« Initiative Nano imagerie »), initié dès 2015.

La disponibilité au cœur de Paris de ce microscope très performant, et l'un des plus puissants du monde, est aujourd'hui un facteur d'excellence et de compétitivité scientifique dans le domaine de la biologie structurale pour tous les chercheurs de l'Institut Pasteur, ainsi que pour ses partenaires. De nombreuses équipes en immunologie, en bactériologie, en virologie, en parasitologie et dans les neurosciences vont maintenant pouvoir étendre leurs travaux de recherche.

En effet, l'installation de ce microscope à très haute résolution sur le campus parisien de l'Institut Pasteur fait partie intégrante du projet CACSICE (Centre d'analyse de systèmes complexes dans les environnements complexes) porté par un consortium regroupant l'Institut Pasteur, le CNRS et l'Université Paris Descartes, et coordonné par Michael Nilges.

Le projet CACSICE a obtenu en 2011 un financement « Equipex » (Équipements d'excellence) de 7,5 millions d'euros, accordé par l'Agence Nationale de Recherche dans le cadre des Programmes d'Investissements d'Avenir, afin de soutenir l'acquisition du microscope.



Arrivée du microscope sur le campus parisien de l'Institut Pasteur en décembre 2017, à gauche. Le bâtiment Nocard, à droite.
© François Gardy – Institut Pasteur

Pour se doter de Titan Krios™, il a fallu réunir des sommes importantes : plus de 10 millions d'euros pour l'investissement total (achat du microscope, acquisition de la caméra et construction du bâtiment Nocard), réunissant ainsi les conditions pour intégrer le microscope au sein de l'Institut Pasteur. Une longue campagne de crowdfunding a été menée depuis 2016.



Le docteur Jean-François Chambon, directeur de la communication et du mécénat explique : *« Nos mécènes et nos grands donateurs ont été sollicités, et un très grand nombre de particuliers ont également participé à cette campagne de levée de fonds. Celle-ci a permis de recueillir plus d'un million et demi d'euros. C'est grâce à cet élan de générosité que l'Institut Pasteur a pu finaliser ce projet, et peut aujourd'hui mettre à disposition des chercheurs ce nouvel équipement. »*

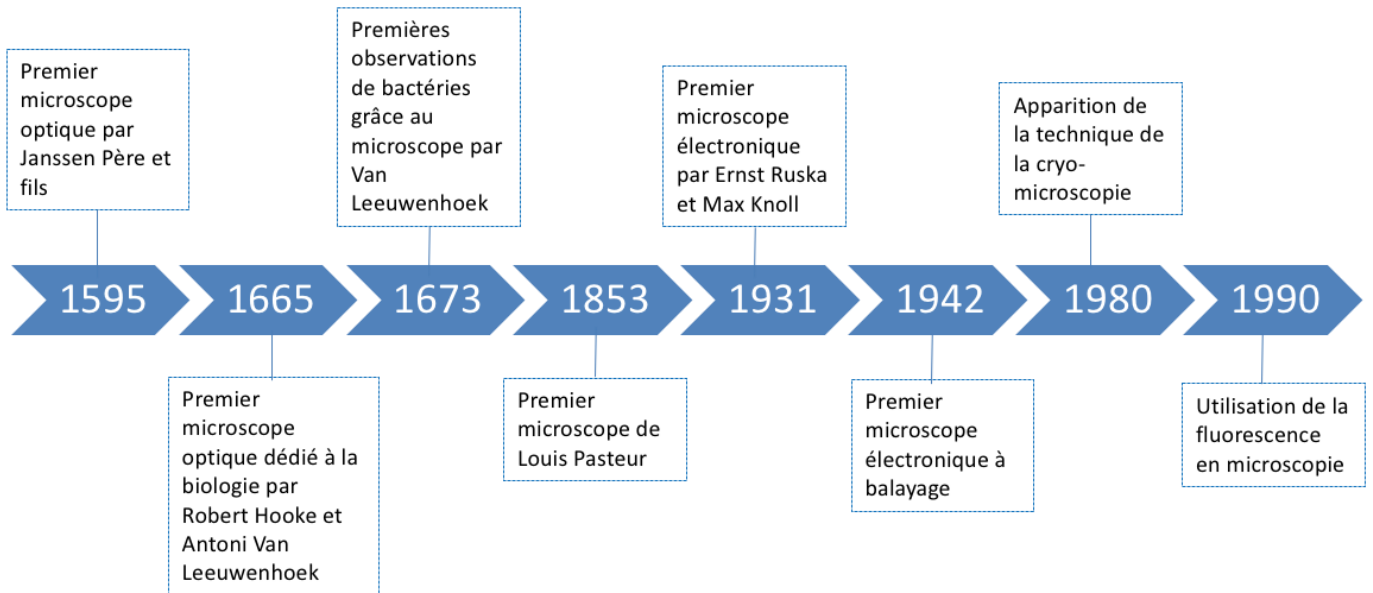
Pour l'Institut Pasteur, qui fête cette année son 130e anniversaire, acquérir le microscope Titan Krios™, l'installer dans un bâtiment dédié et recruter les experts spécialisés en cryo-microscopie

électronique, attestent de son ambition de vouloir demeurer aux avant-postes de l'innovation pour la santé.

LA MICROSCOPIE A L'ECHELLE DU TEMPS

Le développement de la microscopie s'est fait en plusieurs étapes, de nombreuses ayant marqué les recherches menées à l'Institut Pasteur.

Retour sur les moments clés :



Microscopie optique

1667 : Robert Hooke, l'un des pères de la microscopie rédige le traité *Micrographia*, première incursion documentée dans le monde microscopique

1673 : Antoni Van Leeuwenhoek est le premier à voir des bactéries qu'il nomme « animalcules »

1853 : Louis Pasteur fait l'acquisition de son premier microscope

1882 : L'Allemand Robert Koch découvre le bacille de la tuberculose au microscope

1889 : L'Institut Pasteur inaugure son laboratoire de photomicrographie

1894 : Le pasteurien Alexandre Yersin découvre les bactéries pathogènes de la peste

Microscopie électronique

Années 30 : Des ingénieurs allemands créent les premiers prototypes de microscopes électroniques. Au lieu d'utiliser la lumière (composée de photons) et des lentilles de verre, ils ont l'idée d'utiliser des électrons, accélérés sous vide dans des tubes cathodiques, et des lentilles électromagnétiques.

1942 : Le service des virus accueille le premier microscope électronique à l'Institut Pasteur

1963 : Simultanément à celles faites par des confrères internationaux, réalisation des premières images du virus rabique en France par le pasteurien Charles Dauguet

1983 : Réalisation de la première image de microscopie ayant accompagné la découverte du VIH par Charles Dauguet

A gauche : premier microscope de Louis Pasteur (en haut) ; microscope Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM) (en bas).

A droite : photo d'une expérience sur bactériophages de Félix d'Hérelle (1936-1940, en haut) ; image haute résolution de bactériophages présents sur la bactérie *E. coli* (2011, en bas).



Microscopie à fluorescence

1962 : Découverte de la GFP (*Green Fluorescent Protein*), protéine fluorescente verte issue de méduses et agissant comme marqueur de virus, bactéries ou cellules.

1974 : Mise en place d'une Station centrale de microscopie électronique à l'Institut Pasteur

2001 : Mise en place d'une Plateforme d'Imagerie Dynamique

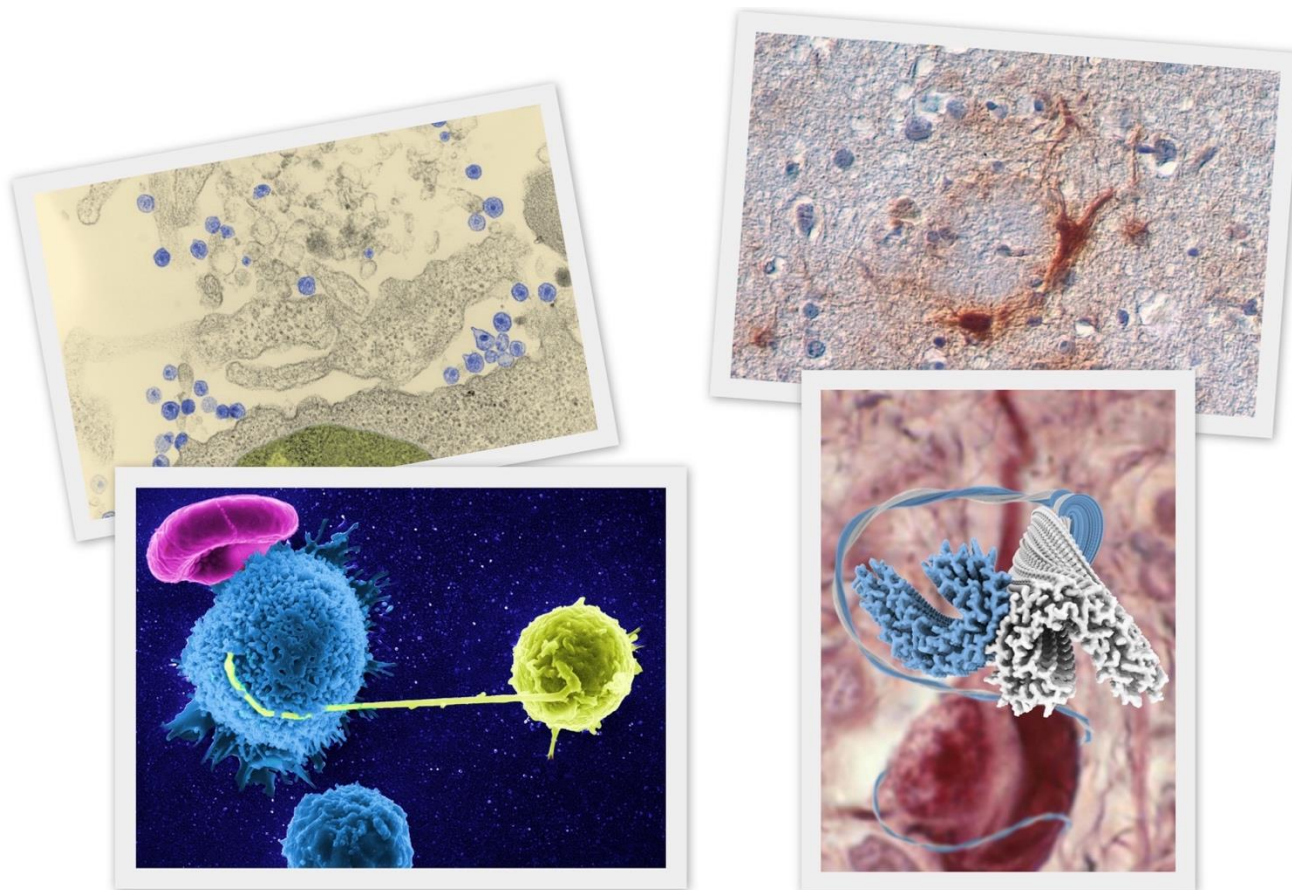
Cryo-microscopie

Années 80 / 90 : Trois chercheurs, récompensés en 2017 d'un Prix Nobel, contribuent par leurs travaux complémentaires à mettre au point la technique de cryo-microscopie, A. Dubochet, J. Franck et R. Henderson. En 1990, R. Henderson parvient à obtenir la première image en 3 dimensions d'une protéine.

2000 : acquisition d'un premier cryo-microscope par l'Institut Pasteur

2009 : une première équipe spécialisée en cryo-microscopie rejoint l'Institut Pasteur

2018 : Installation au sein du bâtiment Nocard de l'Institut Pasteur d'un microscope Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM), utilisant la cryo-microscopie électronique.



A gauche, première image de microscopie ayant accompagné la découverte du VIH réalisée par Charles Dauguet (1983, en haut) ; en microscopie électronique à balayage de lymphocytes infectés par le VIH, produite par l'équipe d'Olivier Schwartz (2009, en bas).

A droite, plaque amyloïde caractéristique de la maladie d'Alzheimer (2009, en haut) ; image produite par Titan Krios™ (Thermo Scientific™ Krios™ Cryo-TEM) d'une paire de filaments en hélice associée à la maladie d'Alzheimer (© Sjors Scheres, en bas).

contact

Service de presse de l'Institut Pasteur

AURELIE PERTHUISON 01 45 68 89 28

MYRIAM REBEYROTTE 01 45 68 81 01

presse@pasteur.fr

Agence PRPA

ANNE PEZET 01 46 99 69 60

anne.pezet@prpa.fr

DIANE-MORGANE RABUAT 01 46 99 69 63

diane-morgane.rabuat@prpa.fr