

360 DEGRES

SEPT.19



EDITO

Un poisson pour la vue !

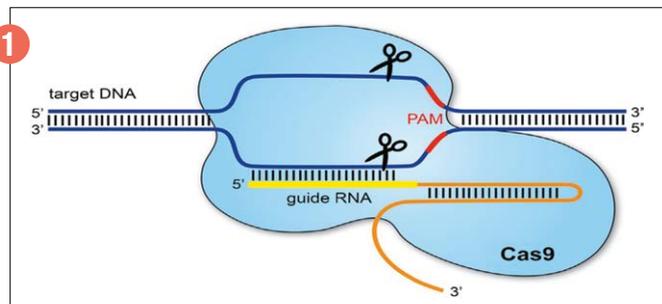
En vision comme dans la lutte contre le cancer, il n'y a pas de succès thérapeutique d'importance sans, au préalable, la compréhension du fonctionnement normal des tissus puis l'analyse des processus pathologiques. Il ne suffit pas d'incriminer tel ou tel gène pour comprendre l'évolution d'une maladie héréditaire et comment le désordre cellulaire s'installe. D'ailleurs, la plupart du temps, il n'y a pas un gène mais plusieurs qui sont en cause ou à l'origine de mécanismes complexes comme dans la dégénérescence maculaire liée à l'âge.

A l'Institut de la Vision, les équipes recherchent les mutations causales des maladies, analysent le fonctionnement normal et pathologique, puis proposent des stratégies thérapeutiques. Pour renforcer cet écosystème, de nouvelles équipes arrivent avec de nouvelles technologies très innovantes, qui feront l'objet des prochaines newsletters.

Ainsi des découvertes récentes en photonique permettent de suivre neurone par neurone la propagation du signal physiologique de la rétine jusqu'à son interprétation sous forme d'image.

Cependant, il était très difficile de suivre pas à pas la propagation de ce signal. C'est pourquoi l'équipe de Valentina Emiliani a développé une technologie qui couplée à l'optogénétique (Newsletter #12) permet d'activer ou d'inhiber un ensemble de neurones sélectionnés optiquement pour mesurer leur contribution à la formation des images. Valentina Emiliani et son équipe rejoignent donc l'Institut de la Vision, où Valentina collabore déjà avec les équipes Dalkara et Picaud dans les projets sur l'optogénétique pour la restauration visuelle.

Cette approche photonique spectaculaire est aussi mise en place sur le poisson-zèbre, qui a la particularité d'être transparent. Filippo Del Bene utilise cette caractéristique pour reproduire des pathologies visuelles sur ces modèles animaux, par la technique génétique révolutionnaire CRISPR/Cas9.



Outre la transparence, ce modèle animal permet de produire en quelques semaines des modèles génétiques de maladies héréditaires pour en comprendre les processus physiopathologiques avant de les étudier sur des rongeurs. Avec l'aide de la région, de Sorbonne Université et de l'INSERM, l'Institut de la Vision va donc se doter d'une animalerie de poissons-zèbres. L'arrivée de Filippo Del Bene permet d'implémenter à l'Institut de la Vision la production de ces modèles animaux sur les maladies héréditaires de la rétine, l'amblyopie, l'albinisme ou même les pathologies des mouvements oculaires.

Deux autres physiciens spécialisés en photonique et imagerie cérébrale vont aussi renforcer nos

moyens d'investigation du système visuel. Gilles Tessier et son équipe travaillent beaucoup avec l'équipe de Valentina Emiliani sur l'imagerie 3D des cellules par des techniques infrarouges. L'objectif est de développer de nouvelles technologies diagnostiques ou d'analyse du système visuel.

Enfin, Serge Charpak et son équipe analysent, eux, le fonctionnement du cerveau et des neurones au travers de leur consommation métabolique et, de ce fait, leur couplage aux vaisseaux sanguins. Ce couplage sur lequel repose l'imagerie fonctionnelle cérébrale, ou imagerie par résonance magnétique (IRM), est ici examiné au niveau cellulaire et moléculaire. Sa compréhension revêt une importance particulière pour le système visuel puisque la rétine est le tissu le plus consommateur d'oxygène et donc le plus métaboliquement actif.

La recherche de haut niveau se doit de saisir toutes les opportunités technologiques permettant de résoudre les nouveaux défis scientifiques et médicaux. Grâce à vos dons, la Fondation « Voir & Entendre » a cette capacité unique de pouvoir être réactive et d'accueillir de nouvelles équipes, dès que l'opportunité scientifique se présente, sans toujours attendre que l'ensemble des moyens soient apportés par nos tutelles. Cette réactivité est indispensable pour suivre l'évolution rapide des technologies pour une recherche thérapeutique toujours plus innovante.

Bonne lecture !

Jean-Charles Pomerol
Président de la Fondation Voir & Entendre

1 Découvert en 2012, CRISPR Cas9 est un outil génétique d'une haute précision permettant de corriger une mutation, ainsi que d'activer ou désactiver un gène au sein du génome. Grâce à un petit ARN (ici en jaune/orangé), la protéine Cas9 (ici en bleu) va être guidée jusqu'à sa cible pour couper les deux brins de l'ADN entraînant ainsi la modification souhaitée au sein du génome.



**COURSE DES
HEROS**



**Ils ont couru
avec nos chercheurs !**

Pour les 10 ans de l'Institut de la Vision, 4 entreprises (Eurogem, Iris Pharma, Santen et Rockwool) ont soutenu nos coureurs à la Course des héros qui s'est déroulée le 23 juin au Parc de Saint-Cloud. Près de 50 participants ont couru, ou marché, avec nos chercheurs, sous les couleurs de la Fondation Voir & Entendre et de l'Institut de la Vision. Après l'épreuve, les sportifs se sont retrouvés devant le stand de la Fondation pour un pique-nique festif avec les chercheurs. C'est près de 15 000€ qui ont ainsi été collectés grâce aux dons des supporters particuliers et des entreprises. Un grand merci encore pour votre mobilisation au nom des patients !



Les 10 ans de l'Institut de la Vision !

Cette année, l'Institut de la Vision fête ses 10 ans. Avec le soutien de la Ville de Paris et de la Région Ile de France, une conférence internationale consacrée aux nouvelles avancées scientifiques, ainsi qu'aux solutions thérapeutiques et industrielles, se tiendra fin novembre, invitant les scientifiques des instituts les plus importants du monde dans ce domaine. Le programme de cette conférence durera 3 jours, avec des présentations de scientifiques de renommée mondiale et de jeunes chercheurs, médecins ou entrepreneurs. L'un des objectifs est, par l'échange, de partager des idées et de faire émerger de nouvelles questions et d'accélérer le transfert des résultats de la recherche pour la réalisation des soins aux patients. Cette conférence sera également une excellente occasion pour lancer le programme des activités qui se dérouleront au cours des 10 prochaines années à l'Institut de la Vision dans le cadre du nouvel Institut hospitalier universitaire (IHU), profitant pleinement de la synergie offerte par la célébration du 10^e anniversaire de l'Institut de la Vision.

ChroMS, le cerveau comme il n'a jamais été vu !

Une nouvelle technique de microscopie optique, appelée ChroMS, permet pour la première fois d'imager le cerveau de souris en 3 dimensions, à très haute résolution et en couleur. Cette approche révèle dans le tissu nerveux intact et avec une précision inégalée les cellules neurales marquées avec des colorants fluorescents de différentes teintes. Sa mise au point ouvre de riches perspectives pour l'étude des circuits neuronaux de la vision et celle de leur développement. Fruit d'une collaboration entre les équipes de Jean Livet à l'Institut de la Vision et d'Emmanuel Beaupaire au Laboratoire d'optique et biosciences de l'École polytechnique, cette nouvelle technique fait l'objet d'une publication dans la revue Nature Communications.

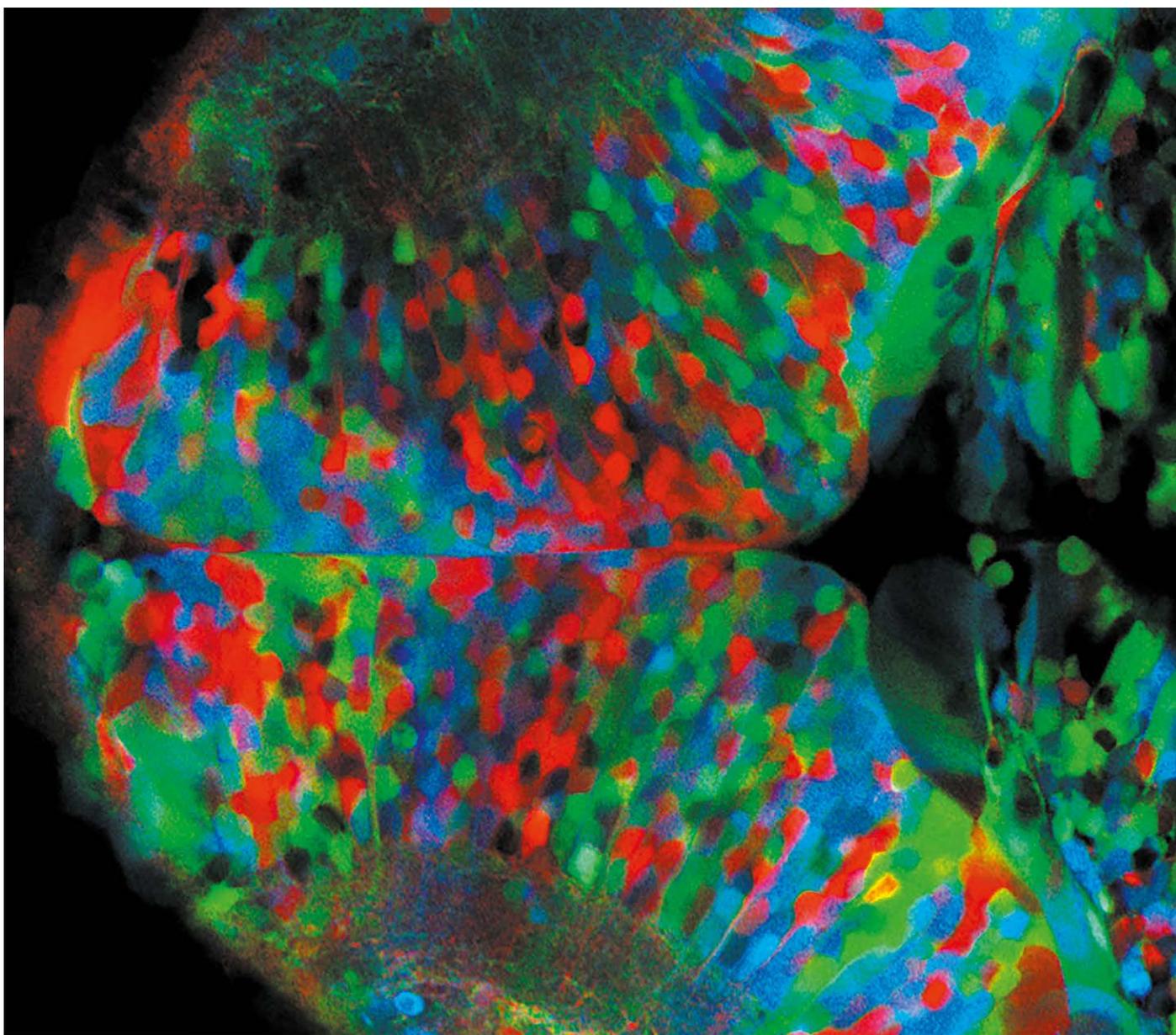
Référence : Abdeladim et al., Nat Comm 2019.



Neurones marqués en couleur dans le cortex cérébral de souris visualisés par microscopie ChroMS. Laboratoire d'optique et biosciences/Institut de la Vision/ École polytechnique/CNRS/Inserm/Sorbonne Université - Adapté de Abdeladim et al., Nat. Comm. 2019

L'œil de poisson-zèbre fait son entrée à l'Institut de la Vision.

La recherche scientifique s'est emparée du poisson-zèbre. Vous découvrirez ci-après comment, par ses qualités, il est devenu un atout dans la bio-médecine.



Le cerveau du poisson-zèbre en couleur grâce à la technique « Brainbow » développée par Jean Livet à l'Institut de la Vision. Les cellules individuelles peuvent être visualisées avec différentes couleurs.



Depuis quelques années, le poisson-zèbre est devenu un organisme incontournable dans la recherche biomédicale tant pour la recherche dite fondamentale que pour des projets spécifiques conduisant à des thérapies. Comment s'explique cet engouement pour ce petit animal qui ne mesure que 4-5 cm de long à l'âge adulte et seulement quelques millimètres pour un embryon ou une larve ? Cela tient à la particularité de ce petit vertébré qui détient plus de 70% de gènes ayant un équivalent direct chez l'homme et dont la fonction évolutive est généralement conservée.

En outre, sa femelle peut produire 200 œufs par semaine et il suffit de 2 à 3 mois pour les transformer en poissons adultes. Le développement des œufs fécondés à l'extérieur du corps de la femelle présente un autre avantage car ils sont ainsi directement accessibles pour la manipulation expérimentale.

Un autre aspect pratique également intéressant tient à son mode de vie en groupes, qui rend son hébergement en laboratoire possible à grande échelle. De nombreuses études tendent même à démontrer que les conditions de promiscuité réduisent le stress de ces poissons.

Pour les études scientifiques, on remarque que les embryons et les larves sont transparents dans les premiers jours de vie. Cette caractéristique est une adaptation évolutive qui, dans la nature, les aide à échapper à la prédation, et qui, en laboratoire, s'avère très utile pour effectuer des

observations par microscopie de nombreux processus cellulaires et moléculaires.

Au stade adulte, les chercheurs ont pu sélectionner des mutants de pigmentation qui nous permettent de conserver cette accessibilité optique des tissus sur l'animal intacte.

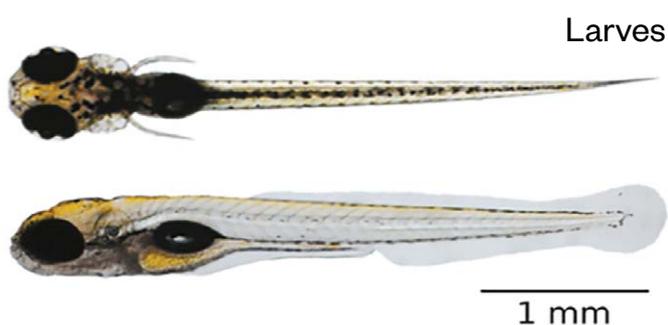
Différents organes, dont la rétine, peuvent ainsi facilement être examinés sur l'animal vivant. Depuis les années 90, de nombreuses techniques ont été mises au point pour produire des mutations dans le génome des poissons-zèbres (voir ci-dessous la technologie CRISPR-Cas9). Ces expérimentations permettent d'étudier la fonction de différents gènes.

Il est également possible d'introduire des protéines fluorescentes dans des populations cellulaires définies pour suivre leur devenir dans l'embryon puis dans l'animal adulte.

1 Un poisson-zèbre adulte. Au laboratoire, nous avons de nombreux « mutants de pigmentation » et tous n'ont pas de rayures sur le corps comme le nom de poisson-zèbre le suggère. Certains sont albinos et sont utiles pour les études d'imagerie. Cette souche a des nageoires plus longues que le « wildtype » et une pigmentation tachetée parfois appelée "léopard". Ce mutant de pigmentation a été naturellement isolé sur le marché des animaux domestiques et il est populaire dans les aquariums tropicaux privés. En laboratoire, nous ne l'utilisons pas pour sa beauté mais parce qu'il est particulièrement robuste et fécond.

Certaines de ces protéines ont été choisies car l'intensité de leur fluorescence varie en fonction de l'activité des cellules. D'où l'importance de transparence des tissus pour suivre ces "rapporteurs d'activité", notamment pour étudier le fonctionnement du cerveau. Cette transparence est aussi avantageuse pour activer ou inhiber des groupes de neurones par optogénétique, qui impose une nouvelle manipulation génétique pour introduire des protéines photo-activables dans les cellules. Par ces différentes approches, les chercheurs de l'Institut de la Vision pourront produire et étudier des pathologies héréditaires de la rétine sur le fonctionnement de ces modèles animaux.

On pourra ainsi examiner en détail les processus physiopathologiques, puis dans un second temps cibler de nouvelles stratégies thérapeutiques en ajoutant des « candidats médicaments » directement dans l'eau des poissons. Une fois cette phase d'expérimentation validée, les chercheurs pourront tester ces hypothèses sur des rongeurs ou des primates non-humains.



Vue dorsale (en haut) et latérale (en bas) des larves de poissons-zèbres âgés de 5 jours. À ce stade très jeune, la petite larve nage librement et a besoin de trouver et de capturer sa nourriture qui est principalement représentée par de très petits organismes aquatiques. En même temps, elle doit être capable d'échapper au danger qui peut être représenté par de plus gros animaux prédateurs. Ces comportements très importants sont nécessaires à sa survie et dépendent tous deux d'une bonne vision. En fait, la petite larve a de très grands yeux (partie noire à l'avant du corps), relativement à sa taille corporelle, comme on peut le voir dans ces images.

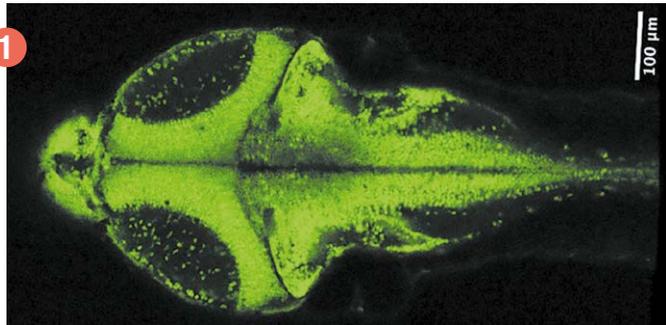


FILIPPO DEL BENE : un spécialiste du poisson-zèbre à l'Institut de la Vision

Filippo del Bene travaille sur le poisson-zèbre depuis le début de ses études doctorales en 2000. Ses premiers travaux portent sur la formation de l'œil pendant le développement du petit embryon. Il poursuit ensuite ses recherches sur le système visuel pour comprendre comment le cerveau interprète les informations que lui fournit l'œil pour voir. Ces animaux sont en fait très dépendants du sens de la vision et, comme nous, comptent sur leurs yeux pour s'orienter dans l'espace qui les entoure. En particulier, une fonction visuelle correcte est cruciale chez les poissons-zèbres pour assurer deux comportements fondamentaux nécessaires à leur survie dans leur environnement naturel : la capacité de capturer leur nourriture et la nécessité d'échapper aux prédateurs potentiels.

Depuis 2010, Filippo del Bene a dirigé une équipe sur cette thématique à l'Institut Curie. Il a aujourd'hui souhaité rejoindre l'Institut de la Vision pour participer à de nombreux projets collaboratifs tant pour comprendre notre vision que pour développer des approches thérapeutiques. Pour cela, il doit élaborer une plateforme de « poissons-zèbres », composée d'une installation pour animaux aquatiques avec plus de 1000 viviers et des aquariums individuels. Ce projet a bénéficié du soutien de la Région Ile-de-France, l'INSERM et Sorbonne Universités

qui reconnaissent l'importance scientifique de ce nouveau dispositif. Cette ressource sera mise à la disposition des chercheurs de l'institut qui souhaitent accueillir ou produire des modèles poisson-zèbre. Filippo del Bene fera ainsi profiter les autres équipes de son savoir-faire dans le domaine tout en développant ses propres projets scientifiques tirant parti des compétences présentes sur le site. Au cours des derniers mois, il a déjà établi plusieurs partenariats scientifiques avec les chercheurs de l'Institut. Nul doute, le poisson-zèbre reviendra régulièrement à l'honneur dans les futures newsletters pour décrire le développement des stratégies thérapeutiques en vision.



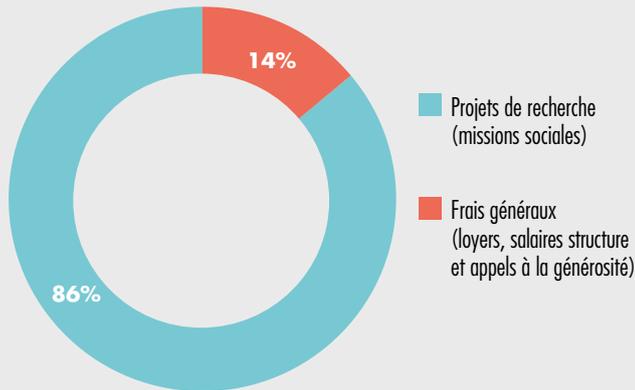
Production de modèles animaux : la technologie CRISPR/Cas9

Ces dernières années, le poisson-zèbre a été au centre d'un autre progrès technique qui a révolutionné la biologie moléculaire et a un énorme potentiel d'application biomédicale : le système CRISPR/Cas9. Cet outil génétique utilise une protéine naturellement présente dans les bactéries appelée Cas9 qui est naturellement capable de couper le code génétique représenté par l'ADN. Cette protéine agit comme un ciseau moléculaire pour couper l'ADN. Pour diriger le ciseau vers un gène cible, les chercheurs ont créé un petit morceau complémentaire d'ARN

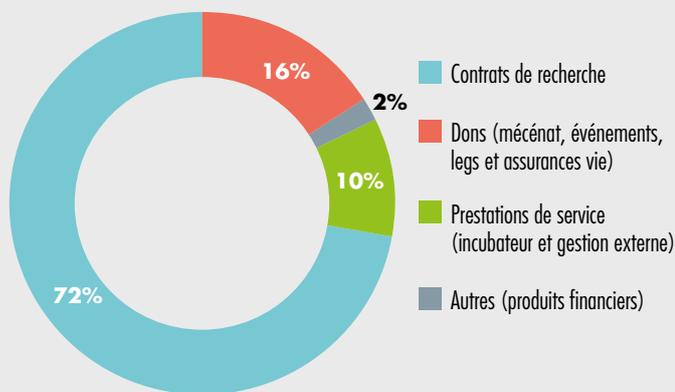
avec une courte séquence "guide" qui se lie à la séquence cible spécifique d'ADN dans le génome. Ce morceau d'ARN se lie également au Cas9 et guide donc son activité de coupure d'ADN spécifiquement dans la région cible du gène. L'activation de ce ciseau moléculaire permet d'induire des mutations sélectivement dans un gène cible et donc de créer un modèle animal dans lequel le gène cible a été inactivé. Cette technologie dite CRISPR/Cas9 est actuellement la méthode la plus simple, la plus polyvalente et la plus précise de manipulation génétique. Son application va d'un outil de recherche pour manipuler le génome dans des systèmes modèles nous permettant de poser des questions sur sa fonction qui n'était pas possible auparavant, à un outil potentiel pour des approches de thérapie génique de précision où l'activité de Cas9 peut être dirigée pour réparer les gènes mutés. Ces applications biomédicales évoluent rapidement, le premier essai clinique étant déjà en place en Amérique du Nord et en Europe. Filippo del Bene a été à l'avant-garde de l'adaptation et de l'application de la technologie CRISPR-Cas9 aux poissons-zèbres. Il a ainsi réussi à inactiver la fonction des gènes chez les larves de poissons-zèbres et à révéler de nouveaux processus essentiels à l'établissement du réseau neuronal visuel.

- 1 **Vue dorsale d'une larve de poisson-zèbre où les neurones du cerveau expriment une protéine fluorescente verte qui peut changer son intensité fluorescente selon l'état d'activation de chaque neurone. Il est donc possible de surveiller avec cette ligne transgénique l'activation neuronale pendant que la larve de poisson-zèbre est vivante et stimulée par des images visuelles dans son environnement.**

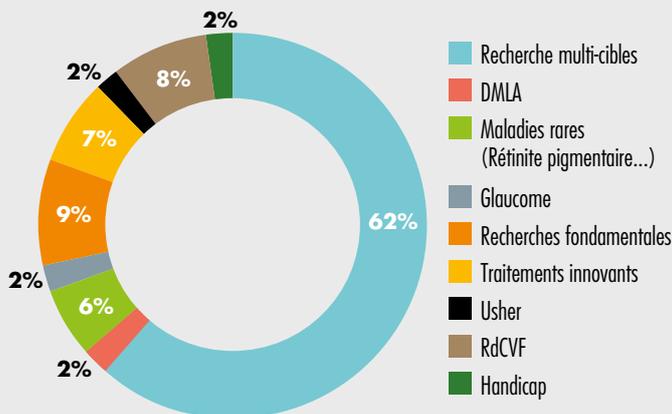
2018 EN CHIFFRES



Dépenses financées par les fonds publics et privés



Origine des ressources



Affectation des dons financés par la générosité du public



L'Institut de la Vision, c'est :



350 personnes
(chercheurs, cliniciens, doctorants, etc.)



19 équipes
de recherche



18 plateformes
technologiques



1 centre
de référence
maladies rares



1 centre
d'investigation
clinique



17 projets
internationaux



1 incubateur
d'entreprises



Plus de **30** parutions
dans les grands médias

N'ATTENDEZ PAS
d'être concerné-e pour agir,
vous aussi donnez pour faire
avancer la recherche !



FAIRE UN DON,
C'EST SIMPLE !

EN LIGNE : www.fondave.org
(site sécurisé pour les dons par CB)

PAR COURRIER : adressez
votre chèque à l'ordre
de la Fondation Voir & Entendre
au 17 rue Moreau 75012 PARIS.

IMPORTANT :

Vous bénéficiez d'une **réduction
d'impôt égale à 66 % du montant
de votre don**, dans la limite de 20 %
de votre revenu imposable !

POUR PLUS D'INFORMATION :

Arnaud Bricout
relation-donateur@institut-vision.org
Tel: 01 53 46 26 07