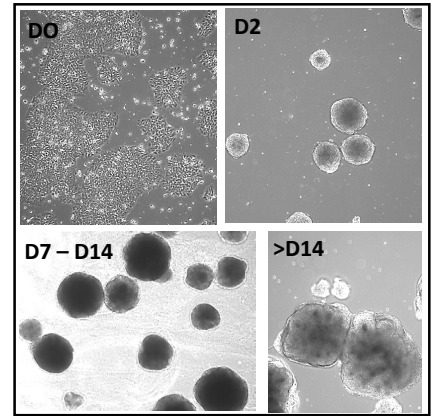


GENERATION ET CARACTERISATION DES ORGANOIDES CEREBRAUX

La plateforme iPSc de l'UMS BioCore à Nantes a reprogrammé les PBMC de patients en cellules souches pluripotentes induites (iPSC). Ensuite, une différenciation dirigée a été appliquée pour obtenir d'abord des sphéroïdes, puis des organoïdes corticaux. Cette différenciation de 150 jours a été validée par immunoloration sur coupes au microtome, suivie par une caméra (Kratoscope) et par une imagerie 3D par feuille de lumière. Le volume d'échantillons d'organoïdes générés étant important et hétérogène, nous avons choisi de travailler en 3D. Toutes ces technologies ont été traitées sur la plateforme Micropicell. Le kratoscope nous a permis de sélectionner les sections d'intérêt. La transparisation par la méthode CUBIC a permis de visualiser les immunomarquages au microscope à feuille de lumière des cérébroïdes.



IMAGERIE

KRATOSCOPE: SERIAL BLOCK FACE IMAGING OF AUTOFLUORESCENCE

Section 3µM, PAX6, SOX2, DAPI

(collaboration P. De Villemagne)

Detector	CMOS 1024x1024px
Resolution	From 30µm to 7µm (zoom 0 to zoom 3)
Excitation	470nm - 500mW
Emission	LP496 + additional slot for Ø25mm filter
Output	16bits .tiff images + metadata in .json files
Acquisition time	10sec/slice - 360 slices/hr
Integration	Addon to every automated microtome

MicroPICell LIGHTSHEET ZEISS LS7

Light Sheet, NeuN, EOMES, SOX2

Maximum object size	1cm
Observation tank volume	25mL
Imaging solution type	Aqueous or organics
Refractive Index Range	1.33-1.58
Magnifications	5X, 20X
Objective work distance	3.7-10 mm
Lasers	405-638nm

Kratoscope

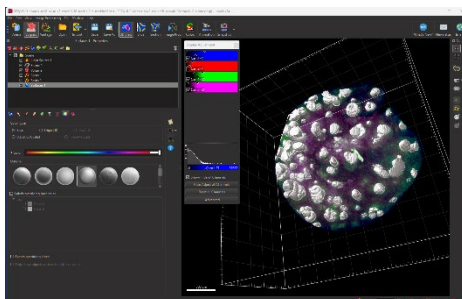
A

Confocal / IF

B

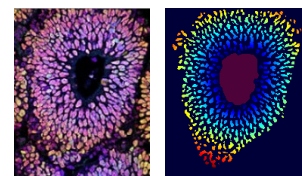
ANALYSES D'IMAGES

- Quantification des cérébroïdes et des niches de neurogénèse en 3D (segmentation par seuillage (cérébroïde et nécrose) et machine learning (lumen) d'IMARIS 10.1.0)



- Quantification 3D de la position des cellules à l'aide de la détection de points (cellules) par apprentissage automatique (lumen). Les cellules sont codées par couleur en fonction de leur distance par rapport à la limite de la lumière.

Population cellulaire : positions 3D liées au centre du lumen



Amandine DI CICCIO Alexandre BAFLET, Michel SIMMONEAU, Mounia BENSÂÏD Laurent DAVID,