

*Les Biosciences
en Région Centre*

ACTES
du
26^{ème} Colloque
BIOTECHNOCENTRE

10 - 11 Octobre 2013
Seillac (Loir et Cher)

Avec le concours du Conseil Régional du Centre



Christian ANDRES, Université de Tours, andres@med.univ-tours.fr - **Hélène BENEDETTI**, CBM-CNRS Orléans, benedett@cnrs-orleans.fr - **Marc BERTRAND**, Technologie Servier, marc.bertrand@fr.netgrs.com - **Christian BRETON**, UAGPF INRA Orléans, christian.breton@orleans.inra.fr – **Franck BRIGNOLAS**, Université d'Orléans, franck.brignolas@univ-orleans.fr - **Norbert BROMET**, Biotec Centre, n.bromet@gmail.com - **Bertrand CASTAING**, CBM-CNRS Orléans, castaing@cnrs-orleans.fr - **Jean-Claude CHENIEUX**, Université de Tours, chenieux@univ-tours.fr – **Jean-Louis DACHEUX**, UMR INRA CNRS Nouzilly, jean-louis.dacheux@orange.fr- **Nicolas DUBOULOZ**, Région Centre, nicolas.dubouloz@regioncentre.fr - **Francis GAUTHIER**, Université de Tours, francis.gauthier@univtours.fr – **Nathalie GUIVARCH**, Université de Tours, nathalie.guivarch@univ-tours.fr – **Michel MONSIGNY**, CNRS Orléans, monsigny@cnrs-orleans.fr – **Henri SALMON**, INRA Nouzilly, hsalmoncr@gmail.com - **Marie-Claude VIAUD-MASSUARD**, Université de Tours, marie-claude.viaud-massuard@univ-tours.fr

Président : Franck Brignolas - Mél : franck.brignolas@univ--orleans.fr
Secrétariat : Nathalie Riche - Mél : nathalie.riche@univ-tours.fr

Cher(e)s adhérent(e)s,

Comme vous le savez, l'Association Biotechnocentre rassemble les acteurs de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et du Développement dans les domaines des Sciences de la Vie, de la Santé et du Bien Être en région Centre. Les objectifs visés par Biotechnocentre sont de créer des synergies entre chercheurs du public et du privé pour l'élaboration de projets innovants, de contribuer au rayonnement de la recherche en favorisant une animation rapprochant chercheurs confirmés, professionnels de l'industrie, doctorants et post-doctorants et de permettre une présentation au grand public des connaissances et des activités de recherche.

Le 26^e Colloque Biotechnocentre se déroulera au Domaine de Seillac les 10 et 11 octobre 2013. Les actes de ce colloque attestent de la pluridisciplinarité et donc de l'originalité de cette manifestation qui se distingue en effet des colloques thématiques auxquels tous les chercheurs, enseignants-chercheurs et doctorants sont habitués. Les actes attestent également, par le nombre de résumés qu'ils contiennent, de l'intérêt que portent les acteurs de la recherche à Biotechnocentre, ils démontrent enfin la vitalité de notre association en région Centre. Cette année, plus de 60 doctorants de l'Ecole Doctorale 549 « Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant » se sont inscrits. Une telle mobilisation démontre clairement l'intérêt de nos jeunes pour cette manifestation et met en exergue leur besoin de présenter et discuter leurs travaux devant leurs pairs. La mobilisation des doctorants lors des colloques 2012 et 2013 démontre *in fine* la pertinence du partenariat établi entre l'Ecole Doctorale 549 SSBCV et Biotechnocentre en 2012.

Au nom des conseils d'Administration, Scientifique et Technique de Biotechnocentre, je tiens à remercier tous les intervenants d'excellence qui animeront ce 26^e Colloque ; tous ont accepté avec enthousiasme et spontanéité notre invitation. Je tiens particulièrement à remercier le Conseil Régional de la région Centre pour son soutien financier constant sans lequel cette manifestation ne pourrait avoir lieu. Je remercie enfin tous nos partenaires, public et privé, qui nous ont également apporté leur concours.

Nous comptons sur votre participation pour assurer le succès de ce 26^e colloque Biotechnocentre. Cela démontrera clairement le dynamisme de la Recherche, de l'Enseignement Supérieur et de l'Innovation en région Centre dans les domaines des Sciences de la Vie, de la Santé et du Bien Être. Il ne me reste plus qu'à vous souhaiter, Madame, Monsieur, chers collègues, chers doctorants et post-doctorants un excellent colloque.

Franck Brignolas
Président de Biotechnocentre

Résumés des Conférences.....	page 5
Résumés des Posters.....	page 36
Index des Auteurs.....	page 102

CONFÉRENCES

1 - Comment agissent les antidépresseurs ?

Catherine BELZUNG p5

2 - Plasticité cérébrale dans les domaines de la transplantation et de l'addiction : de la cellule au comportement

Mohamed JABER p6

3 - Conception rationnelle d'inhibiteurs de protéines des voies MAP-kinase et Akt.

Frédéric BURON p7

4 - Conséquences d'un stress thermique sur la fertilité mâle de *Nasonia vitripennis*

Marlène CHIRAULT p8

5 - Une autre figure d'attachement que la mère conduit-elle à une modification du système ocytocine-CRF ?

Sabrina GAUDIN p9

6 - The HPA axis and response to antidepressant: evidence from an animal model of depression

Wahid KHEMISSI p10

7 - Contrat Région Centre, projet FRELON, Le frelon asiatique, mise en place d'une lutte ciblée

Eric DARROUZET p11

8 - Selection of nucleotide and nucleic acid chemistry for xenobiology

Piet HERDEWIJN p12

9 - Applications of DNA barcoding to plant protection and biodiversity studies

Carlos LOPEZ-VAAMONDE p13

10 - Contrat Région Centre, projet SYMBIOMS, Approche analytique innovante pour la recherche d'inhibiteurs d'origine naturelle de la tyrosinase

Benoit MAUNIT p14

11 - Effet de la fertilité du sol sur l'efficacité d'utilisation de l'eau et des traits foliaires chez le peuplier noir (*Populus nigra* L.)

Justine GUET p15

12 - Le Canal BKCa: Une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement du syndrome de l'X fragile

Betty HEBERT p16

13 - La détection des fractures est améliorée par la combinaison de la DMO et l'analyse de texture de la microarchitecture osseuse mesurée par H et TBS

Jérôme TOUVIER p17

14 - Fonctionnement et nouvel équipement de la plateforme RMN

Céline LANDON p18

15 - « Human Proteome Project » et le rôle des équipes françaises dans ce projet international

Pierre LEGRAIN p19

16 - La vulnérabilité à la cavitation: un trait majeur du fonctionnement hydrique des plantes.	
Hervé COCHARD.....	p20
17 - La vulnérabilité à la cavitation chez le peuplier : synthèse et perspectives	
Régis FICHOT.....	p21
18 - Compartimentation cellulaire et subcellulaire de la biosynthèse des alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar	
Vincent COURDAVAULT.....	p22
19 - Contrefaçon de médicaments	
Nathalie TALLET.....	p23
20 - Rôle de la SUMOylation dans la sclérose latérale amyotrophique (SLA) associée à des mutations du gène SOD1	
Audrey DANGOUMAU.....	p24
21 - ADAM17 induit le décapage du FcγRIIIA à la surface des cellules NK: Identification du site clivage et la relation avec l'activation cellulaire	
Laurie LAJOIE.....	p25-26
22 - Implication du récepteur nucléaire PPARβ, et du DHA, dans l'invasivité dépendante de Nav1.5 des cellules cancéreuses mammaires MDA-MB-231	
Ramez WANNOUS.....	p27
23 - Les Escherichia coli d'actualité	
José DELAVAL.....	p28
24 - Contrat Région Centre, projet TOXO, Inflammation intestinale induite par Toxoplasma gondii	
Aurélien MAILLARD.....	p29
25 - First functional annotation of a polydnavirus: the genome of CcBV explored	
Germain CHEVIGNON.....	p30
26 - Hha et YdgT, deux régulateurs de l'expression de l'invasine Rck médiant une invasion de type Zipper chez Salmonella	
Genaro HURTADO.....	p31
27 - Mise au point d'un vaccin dirigé contre la néosporose bovine	
Solen MORISSE.....	p32
28 - La pharmacognosie inverse, une approche originale pour la découverte de nouveaux actifs naturels	
Philippe BERNARD.....	p33
29 - « Solutions reconnues et innovantes pour les communautés des Sciences du Vivant » « Eurogentec »	
Anthony MEUNIER.....	p34
30 - Maladies de la réparation de l'ADN: clinique, génétique et cancer	
Alain SARASIN.....	p35

Comment agissent les antidépresseurs ?

C Belzung, INSERM 930, TOURS

La dépression est actuellement considérée comme la deuxième cause d'invalidité dans le monde pour les 15-44 ans (Global Burden of Disease Study, OMS 2008). Selon l'OMS, la dépression majeure touche près de 121 millions de personnes dans le monde dont seulement 25% auraient accès à un traitement efficace. Le traitement de référence est une thérapie pharmacologique avec des antidépresseurs. Malheureusement, seul un tiers des patients présentent une amélioration symptomatique après une thérapie avec un premier antidépresseur. Pour améliorer ce taux, il est indispensable de comprendre le mécanisme d'action des molécules actuellement utilisées.

La plupart des antidépresseurs agissent en augmentant la disponibilité en monoamines (en particulier sérotonine et/ou noradrénaline) dans la fente synaptique. Cependant, ce mécanisme ne suffit pas à expliquer l'action des antidépresseurs, car l'aptitude de ces composés à augmenter les monoamines survient peu de temps après leur administration, alors que leurs effets thérapeutiques sont différés dans le temps. Il y a une dizaine d'années, il a été montré que l'augmentation des monoamines n'était que la première étape d'un long processus. En effet, les monoamines vont agir sur des récepteurs post-synaptiques, qui vont activer une cascade biochimique aboutissant en la transcription de gènes codant pour certaines neurotrophines comme le BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor). Le BDNF va stimuler la formation de nouvelles synapses et de nouveaux neurones dans des zones du cerveau impliquées dans la planification et l'inhibition de l'action ou dans la résistance au stress. En particulier, les nouveaux neurones sont recrutés par les antidépresseurs pour faciliter la régulation des hormones du stress, qui est déficitaire chez les personnes déprimés.

La compréhension des mécanismes d'action des antidépresseurs va permettre la mise au point de nouveaux traitements, agissant plus directement sur ces processus.

Thème : Neurosciences

Mots clés : Antidépresseurs – Stress - Neurogenèse

Plasticité cérébrale dans les domaines de la transplantation et de l'addiction: de la cellule au comportement

Mohamed JABER

Laboratoire de Neurosciences Expérimentales et Cliniques-LNEC
INSERM U-1084, Université de Poitiers, France.

La plasticité cérébrale sera abordée par deux exemples issus de nos travaux :

(i) La transplantation cellulaire dans des modèles lésionnels dans le cerveau adulte de rongeurs et (ii) l'effet de l'environnement dans la vulnérabilité aux drogues d'abus.

Le premier exemple s'inscrit dans le cadre de la thérapie cellulaire qui a été proposée comme un moyen de remplacer les neurones dopaminergiques dégénérées dans la maladie de Parkinson. Dans la plupart des études, les cellules transplantées ont été placées au sein de la structure cible, le striatum, et non au sein du site de lésion, la substance noire. En effet, la voie nigro-striée, et plus généralement le cerveau, adulte étaient considérés non permissifs à la repousse axonale des neurones transplantés. Un faisceau d'éléments nouveaux, suite à des travaux effectués dans des modèles animaux, a dernièrement mis en doute ce concept proposant plutôt de placer le transplant au sein de sa structure ontogénique. En effet, des neurones transplantés au sein des sites lésés sont capables d'envoyer des axones à très grandes distances et de rétablir ainsi la connectivité physiologique des réseaux neuronaux. Ces séries d'études soulignent la grande plasticité du cerveau adulte, au delà de ce qui était suspecté jusqu'à présent et ouvrent la voie vers des nouvelles perspectives thérapeutiques dans le domaine de la transplantation cellulaire.

Le deuxième exemple se situe dans le domaine de l'addiction, une pathologie qui résulte de l'interaction entre la drogue et un phénotype vulnérable. Des données pré-cliniques et cliniques indiquent que des conditions environnementales négatives favorisent la vulnérabilité aux drogues alors que des conditions environnementales positives sont des éléments protecteurs. L'environnement enrichi se définit comme la combinaison de stimulations environnementales et sociales complexes. Des souris élevées pendant leur adolescence dans cet environnement sont moins sensibles aux effets psychomoteurs et renforçant de la cocaïne et de l'héroïne. Les conséquences cellulaires et moléculaires de la prise de drogues chez ces souris sont moindres par rapport aux souris élevées dans des conditions standards. Ces résultats montrent que l'environnement enrichi est générateur de plasticité non seulement dans le sens de la protection contre les effets des drogues mais qu'il est capable aussi d'éliminer les conséquences comportementales et neurochimiques des drogues d'abus.

Thème : Plasticité cérébrale du cerveau adulte

Mots clés : transplantation, addiction, comportement animal, Parkinson, cocaïne.

Conception rationnelle d'inhibiteurs de protéines des voies MAP-kinase et Akt.

Sylvain Routier¹, Frédéric Buron¹, Nuno Rodriguez¹, Thibault Saurat^{1,2}, Stephane Bourg^{1,2}, Hélène Bénédicti², Marie-Ludivine de Tausia², Françoise Schoentgen², Fabienne Saab².

1 : ICOA, Université d'Orléans

2 : CBM, UPR4301 CNRS, Orléans

Les cellules humaines sont régulées par de nombreuses cascades enzymatiques dont la perturbation est cause de différents cancers. Rétablir l'équilibre entre ces cascades par la mise au point de molécules dédiées, est un challenge important. Les équipes impliquées dans ce projet se sont orientées vers la régulation de deux cascades enzymatiques spécifiques: la voie MAP-kinase et la voie Akt. Dans de nombreux cancers, ces voies ne sont plus régulées et il est d'un grand intérêt thérapeutique de disposer de molécules capables de les normaliser.

A partir d'inhibiteurs synthétiques et naturels, l'équipe de chimistes (S. Routier, F. Buron, ICOA, Orléans) a conçu et synthétisé des molécules afin qu'elles soient les plus efficaces possibles. Dans le but de tester l'efficaci

té de ces molécules, les deux équipes de biologistes (F. Schoentgen, CBM, Orléans et H. Bénédicti, CBM, Orléans) ont mis au point des tests sur des enzymes purifiées appartenant à ces deux voies.

L'exposé présentera les tests mis au point sur les kinases PI3K et mTor de la voie Akt et le programme de drug discovery élaboré pour synthétiser des molécules inhibitrices de ces kinases. Les travaux de drug discovery ont permis la synthèse de soixante composés inhibiteurs doubles PI3K/mTor possédant des $IC_{50} < 100nM$ sur les deux kinases et ont révélé des résultats prometteurs vis-à-vis des tests de toxicité cellulaire. Ce travail a donc mené à la mise en place d'un plateau de test de ces kinases ouvert à tous les chimistes du Cancéropôle Grand-Ouest et également conduit à la synthèse de molécules originales inhibitrices de PI3K et mTor dont certaines sont brevetées.

Conséquences d'un stress thermique sur la fertilité mâle de *Nasonia vitripennis*

Marlène Chirault¹, Cindy Ménoret¹, Claude Chevrier¹, Christophe Bressac^{1*}, Charlotte Lécureuil^{1*}

¹ Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR CNRS 7261, Université de Tours, Parc de Grandmont, F-37200 Tours, France

Au cours des dernières décennies, plusieurs études ont démontré une baisse de la production et de la qualité des spermatozoïdes chez l'homme et dans la faune sauvage. Alors que la plupart des études sur les troubles de la fertilité portent sur les vertébrés, les invertébrés, qui constituent la majorité de la biodiversité animale terrestre, sont également touchés par cette baisse de la fertilité masculine. Au sein de notre équipe, il a été montré que la reproduction des guêpes parasitoïdes était sensible à l'application de différents stress environnementaux (alimentaire, chimique, thermique). Afin d'analyser les mécanismes à l'origine de l'hypofertilité induite par différents stress environnementaux chez les hyménoptères parasitoïdes, le modèle *Nasonia vitripennis*, dont le génome a été séquencé récemment, a été choisi. Un stress thermique chaud appliqué au cours du développement (34, 36, et 38°C pendant 24h au stade puppe blanche) provoque une diminution significative du stock de spermatozoïdes de manière température dépendant. Les mâles stressés continuent de produire des spermatozoïdes mais présentent un nombre de gamètes réduits tout au long de leur vie adulte, ces mâles sont donc considérés comme hypofertiles. Les femelles accouplées avec ces mâles hypofertiles ont un stock de spermatozoïdes dans la spermathèque réduit par rapport aux mâles témoins. La sex ratio de la descendance est également affectée, en effet les femelles accouplées avec les mâles stressés pondent moins de femelles diploïdes et plus de mâles haploïdes que celles accouplées avec un mâle témoin. La qualité des spermatozoïdes transmis ne semble pas être altérée par le stress thermique puisque chaque spermatozoïde stocké par la femelle donne un descendant. Ce phénotype est concordant avec les effets des stress observés sur les autres hyménoptères parasitoïdes au laboratoire. Au stade où le stress est appliqué, les testicules sont présents et contiennent des cellules sphériques dans des cystes, mais aucune forme allongée (spermatides ou spermatozoïdes) n'a été observée. L'expression en ARNm de Rec8 (marqueur de méiose) a été détectée. *Nasonia vitripennis* semble être un bon modèle pour étudier à la fois les conséquences physiologiques et comportementales des stress environnementaux sur la fertilité mâle et les mécanismes impliqués dans l'hypofertilité induite chez les guêpes parasitoïdes, et pourrait certainement ouvrir de nouvelles pistes d'études chez d'autres espèces d'insectes et de vertébrés.

Thème : Fertilité mâle

Mots-clés : Hyménoptère, stress thermique, hypofertilité, spermatogénèse, sex ratio

Une autre figure d'attachement que la mère conduit-elle à une modification du système ocytocine-CRF ?

Gaudin S., Borde B., Chaillou E., Cornilleau F., Jouaneau N., Laine A-L., Meurisse M., Roquel B., Nowak R.
UMR7247 - INRA - CNRS - Université de Tours -IFCE, Equipe «comportement, neurobiologie, adaptation », 37380 NOUZILLY, France.

L'attachement se révèle, chez le jeune, par un état de stress suite à la perception d'un danger (activation de l'axe corticotrope ou HPA), et son apaisement au contact d'une figure d'attachement (FA), le plus souvent la FA maternelle (FAM). L'activation de l'axe HPA est caractérisée par la sécrétion centrale de corticolibérine (CRF) au niveau du noyau paraventriculaire (PVN) induisant la libération de cortisol au niveau périphérique. L'ocytocine (OT), sécrétée au niveau du PVN puis libérée au niveau périphérique, participe à la régulation de l'axe HPA par un rétrocontrôle négatif sur la production de CRF. En élevage, les jeunes ruminants sont couramment séparés de la mère quelques heures après la naissance puis élevés avec des congénères de même âge, sans FAM. Nous avons évalué la possibilité qu'un congénère devienne une FA ainsi que les répercussions sur l'axe HPA et l'OT chez le mouton. 3 groupes d'agneaux ont été élevés en dyades : 6 agneaux avec leur mère (M) et 12 agneaux séparés de leur mère dès la naissance, dont 6 hébergés avec un congénère de même âge (C) et 6 avec un objet (O). L'attachement a été évalué au travers des comportements de détresse (bêlements) lors d'une séparation (dyade ; séparation; réunion). La modification de l'axe HPA et la production OT seront évaluées par dosage plasmatique et par comptage des neurones à CRF et OT dans le PVN. Les résultats indiquent que les agneaux s'attachent au congénère (*Wilcoxon*, médianes : C : 0 ; 46.5 ; 0, $p=0.03$), comme à la mère (M : 0 ; 28.5 ; 0, $p=0.03$) et contrairement à l'objet (O : 6 ; 4 ; 2). Les agneaux privés de FAM ont une cortisolémie plus élevée dans les premières 24h suivant la naissance que ceux maternels (*Mann Whitney*, médianes : M : 44.5ng/ml ; C, O : 64 ng/ml, $p=0.03$). Néanmoins, la présence du congénère atténue cette forte cortisolémie au cours des jours suivants, contrairement au groupe O (*GLM*, effet groupe $p=0.01$; C, $M<O$, $p<0.01$). Ces données soutiennent l'idée d'un rétrocontrôle négatif plus fort sur l'axe HPA chez le groupe C par rapport au groupe O. Le dosage de l'OT et le dénombrement des neurones OT et CRF permettront d'étayer cette hypothèse.

Thème : Attachement chez le jeune agneau

Mots-clés : séparation maternelle, stress, ocytocine, CRF, hypothalamus, mouton

The HPA axis and response to antidepressant: evidence from an animal model of depression.

Wahid KHEMISSI^{1, 2}, Rai Khalid FAROOQ^{1, 2}, Anne-Marie LE GUIQUET^{1, 2}, Mohsen SAKLY³, Catherine BELZUNG^{1, 2}.

¹Inserm U930, UFR Sciences et Techniques, ²Université François Rabelais, Tours, France, ³Laboratoire de Physiologie intégrée, Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte, Tunisia

Antidepressant therapy does achieve remission only in a subpopulation of depressed patients. Interestingly, altered regulation of the HPA axis is a predictor of treatment response in humans but the mechanisms involved in this are poorly understood. As further progress involves animal models, it becomes necessary to mimic this resistance and the contribution of the HPA axis regulation in animals. The Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) in mice is an animal model of depression which has the advantage of reproducing the role of socio-environmental stress in the onset of a depressive episode and to induce a set of alterations suggestive of symptoms of depression and to predict effectiveness of the response to antidepressants. As a first step, we subjected BALB/C mice to UCMS in order to induce depressive-like alterations. After two weeks of stress exposure we measured the regulation of the HPA axis using the dexamethasone (0.1mg/kg, ip) suppression test. According to the percentage of corticosterone suppression after dexamethasone injection, we divided the mice into two groups: High suppression (HS) and Low suppression (LS). From the fifth week onwards, we administered fluoxetine (an antidepressant from SSRI group) at 15mg/kg (i.p.) daily. At the end of 7th week, we applied a battery of behavioral tests assessing the emotional, cognitive, and motor aspects of UCMS induced depressive-like behavior. Our results show that fluoxetine-induced antidepressant effects were observed with higher amplitude in HS when compared to LS in various behavioral aspects like coat state, novelty suppression of feeding, splash test and Nest test. The same profile was found concerning the immunohistochemical analysis of ki-67 positive cells in the dentate gyrus of the hippocampus, which is a marker of neuronal proliferation. This suggests that the failure of fluoxetine to induce antidepressant effects was associated to poor ability of the compounds to stimulate cell proliferation in the hippocampus.

Thème : Affective disorders

Mots-clés : Résistant dépression, HPA axis, Fluoxetine.

Le frelon asiatique : bilan des études et mise en place d'une lutte ciblée

E. Darrouzet, J. Gévar, S. Dupont, AG Bagnères, JL Mercier, JP Christidès

Université de Tours, IRBI UMR CNRS 7261, Parc de Grandmont, 37200 Tours

Le frelon asiatique *Vespa velutina nigrithorax* a été introduit accidentellement en France en 2004. Depuis, l'espèce a envahi rapidement le territoire français et européen. Son expansion pose de nombreux problèmes : environnementaux (le frelon est un prédateur d'autres insectes), économique (le secteur apicole est touché, car le frelon chasse les abeilles) et de santé publique (des attaques ont eu lieu sur des personnes).

Le projet de recherche « FRELON », financé par la région Centre (2011-2014), vise à obtenir des connaissances sur la biologie et l'écologie de cette espèce invasive ; ceci afin de mettre au point un piège sélectif contre elle. Parmi les divers aspects scientifiques qui y sont traités, nous nous sommes par exemple intéressés à la signature chimique (hydrocarbures cuticulaires) des frelons, dans l'optique d'utiliser ces produits pour améliorer la sélectivité des pièges anti-frelons. Les hydrocarbures constituant cette signature chimique ont été identifiés en chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse, puis analysés selon la nature des individus (sexe, caste, colonie). L'activité des colonies a été de plus suivie par une technologie RFID. L'impact de la prédation sur les ruchers a été abordée par l'étude des signatures chimiques de frelons capturés devant les ruches et l'analyse des réponses des apiculteurs à un questionnaire apicole national diffusé en 2012. En parallèle, un piège sélectif est en cours d'élaboration pour protéger les ruchers et d'autres sites. Des prototypes de piège ont été réalisés et sont testés en laboratoire et sur le terrain.

Artificial Nucleic Acids in Synthetic Biology

Piet Herdewijn

Laboratory of Medicinal Chemistry, Rega Institute for Medical Research, KU Leuven
Minderbroedersstraat 10, 3000 Leuven, Belgium

The approach to synthetic biology that we follow is a bottom up chemical approach, in which we try to implement artificial information systems in cells.

The most obvious polymers to use for this purpose are artificial (non-natural) nucleic acids. This information system should be orthogonal to cell's information system (DNA), which means 'lack of communication'.

For this purpose we have to develop new synthetic nucleic acids, together with its proper biochemistry. The properties of these nucleic acids and their usefulness for in vivo application will be discussed.

Thème : synthetic biology

Mots clés : nucleic acids, polymerase, metabolism, expression

Applications of DNA barcoding to plant protection and biodiversity studies

Carlos Lopez-Vaamonde & Rodolphe Rougerie

INRA, UR633 Zoologie Forestière, F-45075 Orléans, France

DNA Barcoding – the use of short, standardized DNA sequences for species identification – is revolutionizing the way we study biodiversity. Here we give an overview of DNA barcode technology and illustrate its successful application in the fields of plant protection, large-scale biomonitoring and rapid biodiversity assessment

Thème : Biodiversité (Arial, 12 points)

Mots clés : Bioassessment, Insects, Molecular diagnostics, Plants pests, Rapid biodiversity assessment, species identification

Approche analytique innovante pour la recherche d'inhibiteurs d'origine naturelle de la tyrosinase

Aleksander Salwiński¹, David Da Silva¹, Raphaël Delépée², Benoît Maunit¹

1. Université Orléans, CNRS, ICOA, UMR 7311, F-45067 Orléans, France

2. Département de Chimie Analytique, UFR des Sciences Pharmaceutiques, 14032 CAEN cedex, France

La recherche d'inhibiteurs d'origine naturelle de la tyrosinase, enzyme qui régule les premières étapes de la synthèse de la phéomélanine et de l'eumélanine, trouve tout son intérêt dans la diminution, voire la disparition, du phénomène d'hyperpigmentation cutanée. L'approche développée par l'équipe analytique « Extraction, Analyse de Molécules Bioactives » de l'Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA) de l'Université d'Orléans, dans le cadre de ces travaux, consiste à rechercher des molécules actives à partir des plantes et à tester leur aptitude à inhiber des enzymes telles que la tyrosinase pouvant par la même diminuer la mélanogénèse et ainsi apparaître comme actif potentiel contre l'apparition de taches de sénescences. L'originalité de notre méthodologie, appelée « IF-MS » pour « Intensity Ion Fading Mass spectrometry » consiste à permettre une détection par spectrométrie de masse des interactions spécifiques entre des molécules d'intérêt présentes dans l'extrait végétal brut et la tyrosinase. Il s'avère que cette méthode ouvre la possibilité d'étudier de manière rapide et efficace les interactions enzyme-substrat dans des mélanges complexes ce qui la place potentiellement comme pouvant être une technique de pointe pour le criblage de molécules bioactives.

Nous profiterons de cette présentation pour aborder les spécificités de cette méthode analytique et pour discuter sur des exemples d'applications basés sur l'utilisation de standards connus comme étant des inhibiteurs ou substrats de la tyrosinase tels que l'acide kojique ou la glabridine et sur un échantillon réel comme l'extrait de réglisse (*Glycyrrhiza glabra*).

Thème : Cosmétique, molécules d'origine naturelle, développement de méthodes analytiques innovantes

Mots clés : Interactions enzyme/substrat, spectrométrie de masse, criblage moléculaire

Effet de la fertilité du sol sur l'efficacité d'utilisation de l'eau et des traits foliaires chez le peuplier noir (*Populus nigra* L.)

Justine Guet^{1, 2, 3}, Francesco Fabbrini⁴, Maurizio Sabatti⁴, Catherine Bastien³ et Franck Brignolas^{1, 2}

¹UFR-Faculté des Sciences, UPRES EA 1207 'Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures', Université d'Orléans, rue de Chartres, BP 6759, F-45067 Orléans Cedex 2, France

²INRA, USC1328 'Arbres et Réponses aux Contraintes Hydriques et Environnementales' (ARCHE), rue de Chartres, BP 6759, F-45067 Orléans Cedex 2, France

³INRA, UR588 'Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières' (AGPF), centre de recherche d'Orléans, CS 40001 Ardon, F-45075 Orléans Cedex 2, France

⁴Department for Innovation in Biological, Agro-food and Forest systems, University of Tuscia, Via S. Camillo de Lellis, 01100 Viterbo, Italy

Le peuplier (genre *Populus*) fait partie des espèces ligneuses les plus cultivées à travers le monde pour la production de bois. Le niveau de fertilité du sol est considéré comme l'un des déterminants majeurs du niveau de productivité des peupleraies. Alors que les effets de la fertilité du sol sur la physiologie des hybrides de peuplier ont

été largement décrits au cours des dernières décennies, peu d'études se sont intéressées aux effets de la fertilité du sol sur la physiologie du peuplier noir (*Populus nigra* L.) qui constitue l'un des parents des principaux hybrides de peuplier commercialisés en Europe. Dans cette étude, nous avons donc évalué les effets d'une variation de la fertilité du sol sur l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) et un ensemble de traits foliaires au sein d'une collection européenne de peupliers noirs installée dans deux sites expérimentaux contrastés pour leur niveau de fertilité. Nous avons étudié, pour une même saison de végétation, les dimensions, la forme, la structure et la composition des feuilles ainsi que le niveau de discrimination isotopique vis-à-vis du ^{13}C de la matière organique foliaire ($\Delta^{13}\text{C}$) qui est un prédicteur indirect de WUE au niveau foliaire. L'ensemble des traits étudiés étaient influencés par le niveau de fertilité du sol. Nous avons pu mettre en évidence une augmentation significative de la surface foliaire ainsi que de la longueur du pétiole en réponse à une augmentation de la fertilité du sol. La forme des feuilles était également affectée par les variations de fertilité entre sites : les feuilles produites dans le site le plus fertile présentaient une forme plus circulaire. Par ailleurs, l'augmentation de la fertilité du sol a induit une diminution de la densité et/ou de l'épaisseur des feuilles et une augmentation de la concentration en azote et en carbone foliaire par unité de masse. Enfin, les valeurs de $\Delta^{13}\text{C}$ étaient significativement plus faibles dans le site le plus fertile suggérant une augmentation de WUE en réponse à l'augmentation de la fertilité du sol. L'implication potentielle de ces changements morphologiques, structuraux et fonctionnels sur les capacités d'interception de la lumière, de fixation du carbone et de production de biomasse sera discutée.

Thème : écophysiologie végétale

Mots-clés : fertilité du sol, efficacité d'utilisation de l'eau, traits foliaires, peuplier noir

Le Canal BKCa: Une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement du syndrome de l’X fragile

HÉBERT B.^a, PERCHE O.^{a,b}, MENUET A.^a, DOISNE N.^a, PICHON J.^a & BRIAULT S.^{a,b}

^aINEM CNRS UMR 7355, 3b rue de la Férollerie 45071 Orléans cedex 2

^bCentre hospitalier régional d’Orléans, 14, avenue de l’Hôpital, 45100 Orléans-La-Source cedex 1, France

Le syndrome du X fragile (FXS) est la cause la plus fréquente de retard mental héréditaire (MD) associée à des troubles du spectre autistique. Il résulte de l'inactivation du gène FMR1 et la perte de la protéine codée FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein). L'absence de la protéine FMRP chez la souris *Fmr1* KO (modèle murin du FXS) entraîne la dérégulation de protéines synaptiques dont Kcnma1 (sous-unité α du canal potassique à grande conductance activé par le Ca^{2+} , BKCa). Des anomalies des canaux BKCa ont été impliquées dans des cas de déficiences mentales et/ou d'autisme, ce qui suggère que ces canaux pourraient être une nouvelle cible thérapeutique pour le FXS. Les objectifs de cette étude sont les suivants: 1) caractériser l'anomalie moléculaire du canal BKCa dans le modèle souris du FXS et 2) évaluer l'effet thérapeutique d'une molécule ouvreuse de canal BKCa, le BMS-204352, sur la maturation des épines dendritiques des neurones FMR1 KO et sur le comportement social des souris *Fmr1* KO. Les résultats ont mis en évidence une expression protéique diminuée de Kcnma1 dans différentes structures cérébrales, et dans les neurones en culture. Cette baisse est également associée à une baisse d'activité électrique. *In vitro* l'addition de BMS-204352 au milieu de culture induit la maturation des épines dendrites des neurones FMR1 KO. *In vivo*, l'injection unique de BMS-204352 restaure le comportement social des souris *Fmr1* KO lors d'un test d'interaction social directe. Par conséquent, le canal BKCa ouvre de nouvelles perspectives comme nouvelle cible thérapeutique dans le traitement du syndrome de l’X fragile.

Thème : Thérapeutique dans le syndrome de l’X fragile

Mots-clés : Syndrome X fragile, BKCa, traitement.

La détection des fractures est améliorée par la combinaison de la DMO et l'analyse de texture de la microarchitecture osseuse mesurée par H et TBS.

J. Touvier¹, R. Winzenrieth⁴, H. Johanson², H. Toumi¹, J.P. Roux³, J. Chaintreuil⁵, D. Hans⁶, E. Lespessailles¹

¹ EA4708 - I3MTO - Orleans University – France ² WHO Collaborating Center for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield Medical School, Sheffield, UK. ³ INSERM Unit 1033 and Lyon University, Lyon, France

⁴ R&D department, Medimaps, Bordeaux, France ⁵ R&D department, D3A, Rambouillet, France

⁶ Bone Diseases Center, Lausanne University Hospital, Lausanne, Switzerland

Objectif : Le but de l'étude est de mesurer les performances d'un modèle combinant la densité minérale osseuse (DMO) et l'analyse de texture de la micro-architecture osseuse pour la détection de fractures ostéoporotiques au niveau de la colonne et de la hanche. **Méthode :** Le Trabecular Bone Factor (TBS) a été mesuré dans une population de 272 femmes âgées de 40 ans qui ont eu une densitométrie osseuse (DXA) mesurée à la colonne vertébrale, à la hanche totale (DMO-HT) et au col fémoral. Le coefficient de Hurst moyen (H) sur des radiographies haute résolution du calcaneum a aussi été mesuré. 96 femmes ont déjà eu des fractures. La valeur clinique additionnelle de la DMO avec le TBS ou le H a été mesurée en utilisant un arbre de décision binaire avec le T-score de la DMO suivi par soit le TBS, soit le H, soit le minimum des terciles du TBS ou du H (Min_TBS_H). L'amélioration du diagnostic a été mesurée par l'indice net de reclassification (NRI). **Résultats :** Parmi la population fracturée les femmes étaient plus âgées (71 ± 10 vs. 62 ± 10 ans, $p < 0,001$), avaient un TBS ($1,165 \pm 0,11$ vs. $1,270 \pm 0,10$, $p < 0,001$), un H ($0,607 \pm 0,03$ vs. $0,630 \pm 0,03$, $p < 0,001$), une DMO vertébrale ($0,842 \pm 0,14$ vs. $0,931 \pm 0,14$, $p < 0,001$) et une DMO-HT ($0,736 \pm 0,13$ vs. $0,855 \pm 0,12$, $p < 0,001$) plus bas que les femmes sans fractures. Aucune différence significative n'a été trouvée avec l'indice de masse corporel. Les corrélations entre la DMO et les paramètres de texture étaient modestes (de 0,3 à 0,5). Le TBS était faiblement corrélé au H ($r = 0,29$). Pour toute diminution d'un écart-type de la DMO, l'odds-ratio (95 % IC) ajusté à l'âge était de 1,73 (1,27-2,35), 1,68 (1,16-2,44) et 1,98 (1,35-2,90) pour le rachis, le col et la DMO-HT respectivement. TBS et H restent significatifs après l'ajustement à la DMO-HT : OR = 2,09 (1,43-3,06) et 1,48 (1,03-2,13) respectivement. Lors de l'utilisation du T-score à -2,5 de la DMO-HT combinée avec les seuils du plus bas tercile du TBS (modèle 1) ou du H (modèle 2), les NRI du modèle 1 ou 2 ont été significativement améliorés par rapport à la DMO seule (+32 % et +31 % respectivement). En combinant DMO-HT et Min_TBS_H (modèle 3) le NRI a augmenté de 37 %. Bien que l'augmentation du NRI soit faible, le modèle 3 a significativement amélioré la détection des fractures puisque 73 % des fractures étaient dans le premier tercile (vs. 48 % et 52 % pour le modèle 1 et 2) et 2 % étaient dans le 3e tercile (vs. 20 % et 15 % pour le modèle 1 et 2). **Conclusions :** Le H et le TBS ont tous les deux améliorés significativement avec la DMO la détection des fractures. La combinaison des deux indicateurs de texture (H + TBS) avec la DMO améliore le diagnostic comparée à l'utilisation de ces indicateurs pris séparément en combinaison avec la DMO.

Thème : Imagerie médicale et diagnostique de l'ostéoporose

Mots clés : Trabecular Bone Score, Hurst, Osteoporose, Hanche, Rachis, Texture, micro-architecture, Densité minérale osseuse.

Fonctionnement et nouvel équipement de la plateforme RMN

Céline LANDON

Centre de Biophysique Moléculaire, CBM CNRS UPR4301, Rue Charles SADRON, 45071 Orléans cedex 02
Celine.landon@cnrs-orleans.fr

La Fédération de Recherche Physique et Chimie du Vivant (FR2708) vient d'acquérir de nouveaux spectromètres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) en milieu liquide et de rénover des équipements existants au Centre de Biophysique Moléculaire (CBM) et à l'Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA).

Trois axes de recherche sont particulièrement concernés : (i) L'imagerie médicale : développement de nouveaux produits de contraste ; (ii) La biologie structurale: étude de biomolécules d'intérêt biologique et/ou thérapeutique ; et (iii) La chimie médicinale: analyse de molécules de synthèse à visée thérapeutique.

La présentation se focalisera sur la mise en place de la plateforme collaborative de biologie structurale à partir de 2014. Parmi les nouveaux équipements, le spectromètre 700MHz de nouvelle génération et équipé d'une crysonde sera en effet dédié à la biologie structurale. Les études de biologie structurale actuellement développées au CBM trouvent leurs applications dans le domaine médical, avec comme principal contexte les infections nosocomiales ou alimentaires. L'acquisition du nouveau spectromètre permettra d'accueillir de nouvelles collaborations nécessitant l'étude de biomolécules d'intérêt biologique et/ou thérapeutique (structures 3D, interactions intermoléculaires, dynamique, ...).

Thème : Biologie structurale

Mots clés : Résonance Magnétique Nucléaire, RMN, Biologie structurale, Structures 3D, protéines, biomolécules, interactions moléculaires, dynamique.

Human Proteome Project » et le rôle des équipes françaises dans ce projet international

Pierre Legrain
President HUPO

Ecole Polytechnique

Le projet de décryptage du protéome humain (Human Proteome Project, HPP) a maintenant bien démarré. Son lancement avait été annoncé au congrès annuel de HUPO à Sydney en 2010, suivi lors du congrès HUPO 2011 à Genève de la mise en place de ses grands objectifs et livrables, et finalement de son organisation précise au congrès de Boston en 2012.

Le projet vise à une annotation de toutes les protéines humaines, dans leurs contextes biologiques respectifs, avec pour chacune, au moins une isoforme identifiée dans un tissu ou liquide biologique humain. Il est structuré autour de deux grands axes : le premier, le C-HPP, réunit des équipes nationales ou régionales prenant en charge chacune l'ensemble des protéines humaines codées par un chromosome ; le second, le B/D HPP pour « biology or disease driven HPP, regroupe des équipes travaillant sur la même question biologique ou intéressées par les mêmes pathologies.

Toutes ces équipes se sont mises d'accord sur des critères de qualité et d'analyse, tant en spectrométrie de masse (pilier MS) que pour l'utilisation de réactifs d'affinité, tels que les anticorps (pilier AB), et ont adopté des standards communs d'annotation des données brutes et analysées (pilier KB).

Lors du congrès HUPO qui vient de se tenir à Yokohama du 14 au 18 Septembre, l'ensemble des équipes du C-HPP a rendu compte de l'avancée de ses travaux et une présentation des diverses études biologiques ou médicales du B/D HPP a été faite.

Lors de ma présentation, je résumerai l'état des lieux du projet mondial et apporterai des précisions sur l'implication des équipes françaises, en charge du chromosome 14.

Thème : protéome humain ; biologie intégrative et multi-omics

Mots clés : spectrométrie de masse - anticorps – bases de données

La vulnérabilité à la cavitation: un trait majeur du fonctionnement hydrique des plantes.

Hervé Cochard
INRA, UMR PIAF, Clermont-Ferrand

Sous l'écorce de chaque arbre bat un ingénieux système vasculaire qui transporte tous les jours des centaines de litres d'eau vers l'atmosphère. Ce système hydraulique repose sur un mécanisme unique mais très instable car sans cesse soumis aux contraintes de l'environnement. Le talon d'Achille de ce système sous tension est celui d'un risque d'embolie vasculaire lié à un processus de cavitation. La résistance à la cavitation est un trait remarquablement variable entre les espèces et il est démontré que la plupart des arbres, même ceux des forêts tropicales, fonctionnent à la limite du point de rupture de ce système hydraulique, ce qui les rend particulièrement vulnérables à la sécheresse. L'exposé portera sur un certain nombre d'avancées récentes obtenues sur la compréhension du mécanisme de la cavitation, sa variabilité génétique, ainsi que sur les conséquences physiologiques et les implications écologiques de ce trait.

Thème :

Mots clés : Arbre, écophysiologie, fonctionnement hydraulique, cavitation, sécheresse

La vulnérabilité à la cavitation chez le peuplier : synthèse et perspectives

Régis FICHOT¹, Franck BRIGNOLAS¹ et Reinhart CEULEMANS²

¹ Univ. Orléans, INRA, LBLGC, EA 1207, F-45067, Orléans, France

² Univ. Anvers, Laboratoire PLECO, Universiteitsplein 1, B-2610 Wilrijk, Belgique

Afin de fixer le carbone atmosphérique, les arbres perdent de grandes quantités d'eau par transpiration foliaire. Ce phénomène génère un gradient de tension (pression négative) depuis les racines jusqu'aux feuilles. Dans des conditions normales de fonctionnement, les propriétés de l'appareil vasculaire (le xylème) permettent de maintenir la continuité hydraulique des colonnes d'eau. Cependant, lors d'épisodes de sécheresse intenses, une phase gazeuse peut survenir au sein des éléments conducteurs (phénomène de cavitation). Ce phénomène s'apparentant à une embolie gazeuse conduit alors à une réduction de la circulation de l'eau pouvant à terme compromettre la croissance et la survie de l'arbre.

Au cours des 25 dernières années, le nombre d'études conduites sur la vulnérabilité à la cavitation n'a cessé d'augmenter. La comparaison d'espèces vivant dans des environnements contrastés a notamment indiqué que les espèces de milieux secs présentaient généralement une résistance à la cavitation accrue. D'autres études plus récentes ont montré que la perte de fonctionnalité du xylème conditionne directement le seuil de survie à la sécheresse. Enfin, une récente méta-analyse a démontré que quels que soient les biomes forestiers considérés, toutes les espèces présentent une marge de sécurité très réduite vis-à-vis de l'embolie. Tous ces résultats suggèrent que la vulnérabilité à la cavitation est un caractère clé déterminant le niveau de résistance à la sécheresse et qu'il pourrait s'agir d'un caractère adaptatif.

Nous présentons ici une synthèse des données publiées dans la littérature sur le thème vulnérabilité à la cavitation - peuplier. La variabilité entre espèces ainsi qu'entre individus au sein des espèces, l'acclimatation en réponse aux facteurs environnementaux et les liens avec d'autres aspects du fonctionnement de l'arbre seront abordés. L'intérêt d'intégrer ces connaissances pour la filière peuplier ainsi que l'intérêt du peuplier en tant que modèle biologique seront également discutés.

Thème : changement global, écophysiologie, forêts

Mots clés : acclimatation, peuplier, sécheresse, variabilité génétique

Compartimentation cellulaire et subcellulaire de la biosynthèse des alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar.

Emilien Foureau, Grégory Guirimand, Anthony Guihur, Sébastien Besseau, Arnaud Lanoue, Audrey Oudin, Gaëlle Glévarec, Nicolas Papon, Marc Clastre, Benoit St-Pierre, Nathalie Giglioli-Guivarc'h et Vincent Courdavault

Université François-Rabelais de TOURS – EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales.

Afin de lutter contre les attaques de pathogènes et de ravageurs, nombre de végétaux ont développé la capacité de produire des molécules toxiques ou répulsives comme par exemple des alcaloïdes chez la Pervenche de Madagascar. Pour contrôler les effets de ces alcaloïdes et en réguler finement la synthèse *in planta*, une compartimentation complexe de leur voie de biosynthèse s'établit entre les multiples organites et types cellulaires des tissus végétaux. Ainsi, cette organisation repose sur l'implication d'au moins trois tissus foliaires différents et plus de sept compartiments subcellulaires distincts allant des peroxysomes à la vacuole. La séparation enzyme/substrat qui en découle permet l'accumulation, en conditions normales, d'alcaloïdes peu toxiques mais qui deviennent hautement réactifs lorsqu'ils sont mis en contact avec les enzymes les activant, suite à une modification de l'intégrité des cellules végétales provoquée par une attaque de la plante. Il en résulte, chez la Pervenche, la mise en place d'un système de défense original et proche d'une « bombe à retardement » agissant par réticulation de protéines. Ce système prenant place dans les épidermes foliaires agit comme une première barrière de défense et se voit également renforcé par la production d'alcaloïdes à activité cytotoxique directe, accumulés au sein de tissus plus internes tels que des parenchymes des feuilles. Là encore, il apparaît que les enzymes et leurs isoformes participant à cette synthèse montrent un fort niveau de compartimentation faisant de l'architecture des voies de biosynthèse des alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar, un des modèles les plus complexes d'organisation de métabolismes spécialisés.

Thème : Biologie Végétale, mécanisme de défense des plantes

Mots clés : Alcaloïdes, Terpènes, Pervenche tropicale, imagerie GFP

Contrefaçon de médicaments

Nathalie TALLET

Rôle de la SUMOylation dans la sclérose latérale amyotrophique (SLA) associée à des mutations du gène *SOD1*

Audrey Dangoumau¹, Charlotte Veyrat-Durebex^{1,2}, Hélène Blasco^{1,2}, Marie-Amélie Papon¹, Philippe Corcia^{1,3}, Christian R. Andres^{1,2}, Patrick Vourc'h^{1,2}

¹ UMR INSERM U930, Université François-Rabelais, Tours, France ² CHRU de Tours, Laboratoire de Biochimie et de biologie moléculaire, Tours, France ³ CHRU de Tours, Service de Neurologie, Tours, France

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative de l'adulte caractérisée par une mort sélective des motoneurones dans le cerveau et la moelle épinière. Les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la SLA sont mal compris. Ils impliquent des facteurs génétiques (mutations des gènes *C9ORF72*, *SOD1*, *TDP43*, *FUS*) et environnementaux (stress oxydant, hypoxie). Un lien possible entre ces facteurs est la formation dans les motoneurones de patients SLA et de souris *SOD1*^{Mutée} d'agrégats protéiques immunoréactifs pour la protéine SUMO. Plusieurs observations suggèrent que la SUMOylation, qui consiste en la modification post-traductionnelle de protéines cellulaires par fixation à la protéine SUMO, jouerait un rôle dans la physiopathologie de la SLA.

Nous avons montré par des études *in silico* que plusieurs gènes impliqués dans la SLA codent des protéines contenant des sites potentiels de SUMOylation (Dangoumau *et al.*, 2013). *SOD1* par exemple contient 1 site de SUMOylation au niveau de la lysine 75. Nous avons analysé les conséquences de plusieurs mutations de *SOD1* sur la formation d'agrégats dans une lignée de motoneurones, les cellules NSC34. L'analyse des cellules NSC34 48 heures après transfection a montré la formation d'agrégats intracellulaires pour trois mutants liés à la SLA, *SOD1*^{A4V}, *SOD1*^{G93C} et *SOD1*^{V31A}, cette dernière étant une nouvelle mutation que nous avons identifiée chez un patient SLA (Dangoumau *et al.*, soumis). De manière intéressante, nous avons observé une diminution des agrégats pour les doubles mutants non SUMOylables car mutés pour la lysine 75 (*SOD1*^{A4V-K75R}, *SOD1*^{G93C-K75R} et *SOD1*^{V31A-K75R}). Ces résultats indiquent que le blocage de la SUMOylation de formes mutées pathogènes de *SOD1* empêche la formation des agrégats dans les motoneurones.

Nous étudions actuellement si un stress environnemental, comme le stress oxydant et l'hypoxie, s'ajoute à l'effet de la mutation de *SOD1* pour la formation des agrégats dans les motoneurones. Ces études montreront si la SUMOylation est un mécanisme de protection ou de mort des motoneurones en réponse aux facteurs génétiques et environnementaux impliqués dans la SLA.

Thème : Maladie neurodégénérative

Mots clés : SLA, SUMO, *SOD1*, agrégats protéiques

ADAM17 induit le décapage du FcγRIIIA à la surface des cellules NK: Identification du site clivage et la relation avec l'activation cellulaire.

Laurie Lajoie¹, Nicolas Congy-Jolivet¹, Armelle Bolzec¹, Valérie Gouilleux-Gruart^{1,2}, Elodie Sicard¹, Hsueh Cheng Sung¹, Frank Peiretti³, Thierry Moreau⁴, Henri Vié⁵, Béatrice Clémenceau⁵ et Gilles Thibault^{1,2}

¹CNRS UMR 7292, Génétique, Immunothérapie, Chimie et Cancer (GICC), Université François-Rabelais de Tours, 37032 TOURS Cedex, France.

²Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours, laboratoire d'Immunologie, 37044 TOURS Cedex, France.

³INSERM, U1062, Faculté de médecine, MARSEILLE, F-13385, France

⁴INSERM, U1100, Pathologies respiratoires : protéolyse et aérosolthérapie (PRPA), Université François-Rabelais de Tours, 37032 TOURS Cedex, France

⁵INSERM, U892, CRCNA, IRTUN, Therapeutic Research Institute, 44007 NANTES Cedex, France

FcγRIIIA/CD16A, le récepteur de faible affinité pour la portion Fc des IgG est exprimé sur les cellules NK. Impliqué dans la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps, il est cependant décapé de la surface après activation cellulaire. Nous avons mis en évidence par ELISA que l'enzyme recombinante ADAM17, contrairement à ADAM10, clive l'ectodomaine du FcγRIIIA/CD16A. Le peptide fluorogénique dont la séquence correspond aux acides aminés 191 à 201 de la région juxtamembranaire du FcγRIIIA/CD16A est également clivé par la métalloprotéase ADAM17. L'analyse MALDI-TOF, nous a permis d'identifier le site de clivage entre Ala 195 et Val 196 soit un acide aminé en amont de la position attendu. La localisation du site de clivage a été confirmée par la perte d'activité enzymatique d'ADAM17 envers le peptide fluorogénique dans lequel Ala et Val ont été inversé. Nous avons confirmé la présence membranaire d'ADAM17 sur les cellules NK ainsi qu'au niveau intracellulaire par cytométrie en flux et western blot. L'analyse par cytométrie en flux de l'expression membranaire du FcγRIIIA/CD16A et du CD62L, un substrat spécifique de l'enzyme, a révélé que la stimulation d'ADAM17, par le PMA et le N-ethyl maleimide, induit un décapage simultané des deux partenaires. A l'inverse, la pré-incubation des cellules NK avec des inhibiteurs d'ADAM17 tels que TIMP3 et TMI-2, réduit fortement le mécanisme de décapage concomitant du FcγRIIIA/CD16A et du CD62L. De plus, l'activation des cellules NK par l'engagement des récepteurs activateurs naturels tels que NKG2D, NKp30, NKp46 et 2B4, a montré que l'expression membranaire du FcγRIIIA/CD16A varie en fonction du/des récepteur(s) (co-)engagé(s) et a révélé une forte corrélation entre le décapage du FcγRIIIA/CD16A et la dégranulation. Enfin, nous avons montré que le décapage du FcγRIIIA/CD16A est restreint aux cellules activées, suggérant qu'ADAM17 agit en cis. Notre étude a mis en évidence pour la première fois par une approche moléculaire qu'ADAM17 clive le FcγRIIIA/CD16A et a permis d'identifier le site de clivage. Le décapage du FcγRIIIA/CD16A de la surface des cellules NK partiellement dépendant d'ADAM17 peut être considéré comme un marqueur d'activation fortement corrélé à la dégranulation.

Thème : Immunologie

Mots-clés : ADAM17, FcγRIIIA/CD16A, dégranulation, cellules NK, décapage.
ADAM17, FcγRIIIA/CD16A, degranulation, NK cells, shedding.

Abstract :

FcγRIIIA/CD16A, the low-affinity receptors for the IgG Fc portion expressed on human NK cells and involved in antibody-dependent cell cytotoxicity, is shed upon NK cell activation. We found that recombinant ADAM17 cleaved the ectodomain of FcγRIIIA/CD16A but not ADAM10. Accordingly, ADAM17 cleaved a peptide whose sequence encompasses amino acids 191-201 of the stalk region of FcγRIIIA/CD16A. MALDI-TOF analysis revealed that the peptide was cleaved between the Ala195 and Val196 *i.e.* one amino acid upstream of the expected position. This location of the cleavage site was confirmed by the finding that ADAM17 failed to cleave a peptide in which Ala and Val were reversed. ADAM17 was found to be expressed on NK cells and stimulation with PMA or N-ethyl maleimide resulted in the shedding of FcγRIIIA/CD16A and CD62-L, a specific substrate of ADAM17. Pre-incubation of NK cells with ADAM17 inhibitors such as TIMP-3 and TMI2 prevented the shedding of FcγRIIIA/CD16A and CD62-L. Moreover, the shedding of FcγRIIIA/CD16A was strongly correlated with degranulation when a wide range of NK cell-activating receptors were stimulated. Finally, the shedding of FcγRIIIA/CD16A was restricted to activated cells, suggesting that ADAM17 acts mainly, if not exclusively, in cis. Taken together, our results demonstrate for the first time at the molecular level that ADAM17 cleaves the stalk region of FcγRIIIA/CD16A and they identify its cleavage site. The shedding of FcγRIIIA/CD16A is at least partially ADAM17-dependent and it may be considered as a marker of NK cell activation highly correlated to degranulation.

Implication du récepteur nucléaire PPAR β , et du DHA, dans l'invasivité dépendante de Nav1.5 des cellules cancéreuses mammaires MDA-MB-231

R. Wannous, L. Gillet, E. Bon, L. Brisson, J. Chamouton, J. Goré, S. Roger, P. Besson, S. Chevalier

INSERM UMR1069 "Nutrition, Croissance et Cancer", Université François Rabelais, Tours

L'expression des canaux sodiques dépendants du voltage est associée aux caractères invasifs des cellules cancéreuses mammaires. Des ligands naturels des récepteurs nucléaires PPAR (Peroxisome Proliferators-Activated Receptor), comme l'acide docosahexaénoïque (DHA; 22:6n-3), diminuent l'invasion dépendante du canal sodique Nav1.5.

Dans cette étude, nous avons montré que le PPAR β joue un rôle dans l'invasivité cellulaire, et que sa sous-expression transitoire (par un siRNA) ou permanente (par un shRNA) dirigés contre l'ARNm du PPAR β diminue l'invasivité cellulaire. Le même effet a été observé en utilisant un antagoniste pharmacologique du PPAR β . Cette inhibition de PPAR β diminue l'expression de l'ARNm et de la protéine de Nav1.5. Ceci a été confirmé par la technique de patch clamp où nous avons montré une diminution de la densité de courant sodique Nav1.5 dans les cellules shPPAR β . De plus, le canal sodique diminue l'activité de l'échangeur sodium proton NHE1 et nous avons montré que l'efflux des protons, dû à l'activité de NHE1, est moins important dans les cellules qui expriment moins de PPAR β . Cet effet rend l'environnement péri-membranaire moins acide, ce qui va affecter l'activité des cathepsines à cystéines et engendrer ainsi une diminution de la dégradation de la matrice extracellulaire (DQ-gélatine).

En conclusion nous avons montrées que PPAR β joue un rôle dans l'invasivité des cellules cancéreuses mammaires en diminuant l'expression et l'activité de Nav1.5 ainsi que celle de NHE1. Ceci suggère que PPAR β est une cible pharmacologique potentielle pour réduire les métastases chez des patientes et ainsi améliorer leur survie.

Thème : Régulation de l'activité des cellules cancéreuses

Mots-clés : PPAR β , Nav1.5, NHE1, MDA-MB-231, invasion.

Les Escherichia coli d'actualité

José DELAVAL

Inflammation intestinale induite par *Toxoplasma gondii*

Bèrèngère Villèret¹, Léa Brault¹, Auréliè Couturier-Maillard¹, Pauline Robinet¹, Virginie Vasseur¹, Thomas Secher¹, Dominique Buzoni-Gatel², Isabelle Dimier-Poisson³, Muazzam Jacobs⁴, Song-Guo Zheng⁵, Valérie Quesniaux¹, Bernhard Ryffel¹.

¹UMR 7355 Université-CNRS INEM, Orléans, France. ²UMR 0483 Université-INRA Immunologie Parasitaire et Vaccinologie, Biothérapies anti-infectieuses, Université François Rabelais, UFR des Sciences Pharmaceutiques, Tours, France. ³UMR 1282 Infectiologie et Santé Publique, INRA-Centre de Tours, Nouzilly, France. Division of Immunology, Institute of Infectious Disease and Molecular Medicine, University of Cape Town, South Africa. ⁵Division of Rheumatology, Department of Medicine, The Keck School of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, California, USA.

Toxoplasma gondii (*T.gondii*) est un parasite opportuniste capable d'infecter les vertébrés, dont l'Homme. Chez les souris C57BL/6 infectées par voie orale par *T.gondii*, le parasite peut traverser la barrière épithéliale de l'intestin grêle conduisant à une inflammation intestinale. Par conséquent, *T.gondii* modélise certains aspects de la maladie de Crohn, une maladie inflammatoire de l'intestin, pour laquelle les mécanismes moléculaires sont encore mal décrits.

Le rôle des cytokines de la famille de l'interleukine 1 (IL-1) a été étudié dans ce modèle, où l'inflammation est caractérisée par une augmentation de la production de l'IL-1 β , l'IL-1 α et l'IL-1Ra. Cette inflammation a pu être réduite par un traitement à l'aide d'un anticorps neutralisant l'IL-1 β . De plus, des animaux déficients en IL-1R1 (Récepteur de l'IL-1), ont également montré une réduction de leurs paramètres inflammatoires dont la production de cytokines et le recrutement de cellules myéloïdes et de neutrophiles sur le site de l'inflammation. Chez ces animaux, l'infection par le parasite n'affecte pas le nombre de cellules de Paneth, productrices de facteurs antimicrobiens intestinaux, alors qu'il est fortement diminué suite à l'infection chez les C57BL/6.

En conclusion, l'IL-1 semble être induite par *T.gondii* chez la souris et contribuerait à l'inflammation intestinale ce qui constituerait une cible thérapeutique potentielle dans le traitement de la maladie de Crohn.

Thème : Maladies inflammatoires de l'intestin et immunité

Mots clés : *Toxoplasma gondii*, inflammation intestinale, interleukine 1 (IL-1), cellules de Paneth, maladie de Crohn.

First functional annotation of a polydnavirus: the genome of CcBV explored.

Germain Chevignon¹; Sébastien Cambier¹; Julien Thézé¹; Sébastien Moreau¹; Elisabeth Huguet¹; Jean-Michel Drezen¹.

¹Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR CNRS 7261, Université François Rabelais de Tours, Faculté des Sciences et Techniques, Avenue Monge - Parc Grandmont 37200 Tours France.

Cotesia congregata develops as a gregarious endoparasitoid into larvae of the tobacco hornworm *Manduca sexta*. The parasitoid wasp has evolved virulence strategies using an obligatory viral symbiont from the Polydnavirus (PDV) family named *Cotesia congregata bracovirus* (CcBV). CcBV particles are produced by specialized cells of the wasp ovaries and are injected along with the eggs into the host body.

The PDV genome exists as two distinct forms: a linear symbiotic form and an encapsulated circular pathogenic form. The integrated genome is made up of 35 segments and encodes 222 predicted genes distributed in 34 multigenic families.

In the wasp, viral gene expression mainly concerns genes involved in viral particle production. In the caterpillar host, the expression of only a few selected candidate virulence genes had been studied, and so far we lacked a global vision of viral gene expression.

Here we performed a large-scale transcriptomic analysis by 454 sequencing of two distinct immune tissues (fat body and hemocytes) of the host *M. sexta* parasitized by *C. congregata*. Following this analysis, we were able to identify 77 CcBV genes expressed 24hrs after parasitism. This analysis allows us for the first time to have a snapshot of global viral gene expression during parasitism at one given time and in two tissues. In particular, we could show differential gene expression among genes belonging to different families or different segments. This type of analysis will help us to highlight viral virulence genes that play an essential role in the host-parasitoid interaction.

Thème: Host / Parasitoid interaction and Virology

Mots-clés : *Cotesia congregata*, *Manduca sexta*, Polydnavirus, Transcriptome, 454 sequencing

Hha et YdgT, deux régulateurs de l'expression de l'invasine Rck médiant une invasion de type Zipper chez *Salmonella*

Genaro Alejandro Hurtado Escobar*, Olivier Grépinet*, Pierre Raymond Nadia Abed, Philippe Velge, Isabelle Virlogeux-Payant

INRA, UMR1282, Infectiologie Animale et Santé Publique, F- 37380 Nouzilly; Université de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, 37000 Tours

*Les 2 auteurs ont participé à part égal à ce travail

Salmonella est une bactérie entéroinvasive pathogène pour l'homme et les animaux. C'est, à ce jour, la seule bactérie utilisant les deux mécanismes d'invasion cellulaire décrits: le mécanisme dit « Trigger » médié par un système de sécrétion de type III, et le mécanisme dit « Zipper » médié par l'invasine Rck. Si le mécanisme d'invasion cellulaire dépendant de Rck commence à être bien élucidé, les conditions d'expression de cette protéine in vitro et in vivo, et en conséquence son rôle dans la pathogénie, sont très mal connus. Récemment, l'étude transcriptomique de Vivero *et al* (2008) a suggéré la régulation négative du gène *rck* par la protéine Hha impliquée dans le contrôle de l'expression de gènes acquis par transfert horizontal. L'objectif de notre étude a donc été d'étudier le mécanisme de régulation de *rck* par Hha. A l'aide de fusions transcriptionnelles, nous avons montré que Hha, bien qu'elle régule l'expression de *rck*, n'agit pas sur la région promotrice de l'opéron *pefI-srgC* portant *rck* mais qu'elle exerce sa régulation sur l'opéron *pef*, situé juste en amont et qui code des fimbriae impliqués dans l'adhésion des bactéries aux cellules eucaryotes. YdgT, un paralogue de Hha, est également impliqué dans cette régulation. De plus, l'étude de mutants a mis en évidence un élément de régulation important pour l'expression de *rck* au sein de l'opéron *pef* et qui pourrait être impliqué dans la régulation médiée par Hha. L'ensemble de ces résultats suggère un lien fonctionnel entre l'invasine Rck et les fimbriae Pef.

Mots clés : *Salmonella*, régulation, Hha/YdgT, invasion, adhésion,

Mise au point d'un vaccin dirigé contre la néosporose bovine

Solen Morisse¹, Anne-France Boussemart-Prouvost¹, Fanny Boursin¹, Audrey Gnahoui-David¹, Pascal Breton¹, Patrice Roy³, Olivier Gauthier³, Borhane Fellah³, Isabelle Dimier-Poisson² & Edouard Sèche¹

¹ VitamFero, UFR de Pharmacie, 31 avenue Monge, 37 200 Tours

² Université de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, UFR de Pharmacie, 31 avenue Monge, 37 200 Tours

³ Centre de Recherche et Investigation Préclinique, ONIRIS, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Site de la Chantrerie, 44307 Nantes

La néosporose est une maladie infectieuse provoquée par un protozoaire, *Neospora caninum*, qui appartient comme *Toxoplasma gondii* et *Plasmodium falciparum* au phylum des Apicomplexes. Chez les bovins, la néosporose est responsable de nombreux avortements générant des pertes économiques fortes pour les éleveurs.

Actuellement, malgré une forte demande, un seul vaccin (NeoGuard®) est commercialisé. Son efficacité semble cependant limitée et le vaccin n'est pas commercialisé en Europe.

Une souche vivante atténuée de *Neospora caninum* a été mise au point au sein des laboratoire VitamFero, en invalidant, par génie génétique, deux gènes impliqués dans la virulence du parasite. Cette souche, dénommée Neo KO, demeure parfaitement viable, mais surtout elle est non pathogène tout en conservant son potentiel immunogène, ce qui en fait un excellent candidat vaccin.

Les essais initiaux de vaccination, réalisés sur modèle murin, ont confirmé la forte atténuation de la virulence de la souche Neo KO en comparaison avec les souches sauvages. Nous avons également démontré que la vaccination par la souche Neo KO réduisait significativement la transmission materno-fœtale du parasite.

Forts de ces premiers résultats, une expérimentation visant à démontrer l'efficacité de notre vaccin à prévenir les avortements a été entreprise sur espèce ovine. Des brebis ont été vaccinées, mises au mâle puis infectées avec une souche sauvage de *Neospora caninum*. Les résultats sont très probants avec une diminution du taux d'avortements d'environ 70%.

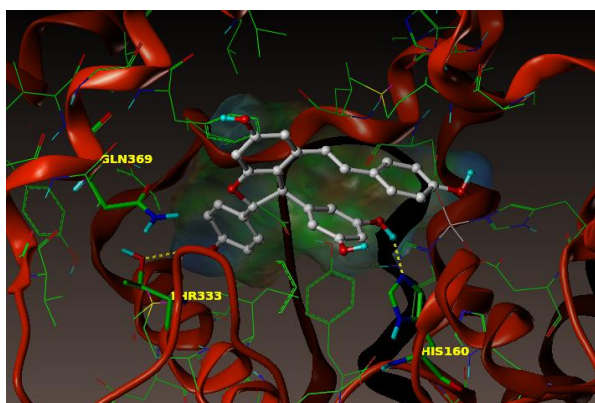
Thème : Biologie Santé

Mots-clés : Néosporose bovine, Vaccin, Santé vétérinaire

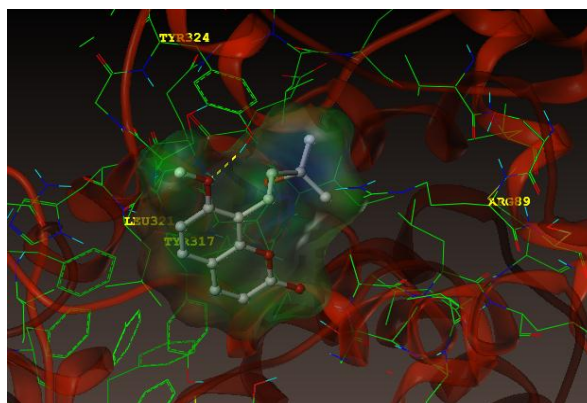
La pharmacognosie inverse, une approche originale pour la découverte de nouveaux actifs naturels

Philippe Bernard
Greenpharma S.A.S. 3, allée du Titane - 45100 - Orléans – France

Soutenue par l'évolution rapide des techniques informatiques, biologiques et chimiques, la pharmacognosie a généré ces dernières décennies une énorme quantité de données. Comment pouvons-nous exploiter cette masse énorme d'informations? -La *pharmacognosie inverse* a été introduite avec cet objectif en vue. Elle consiste à identifier de nouvelles propriétés biologiques aux molécules naturelles connues ou nouvellement découvertes puis de remonter aux organismes qui les contiennent afin de développer de nouveaux ingrédients fonctionnels à forte valeur ajoutée. Les techniques *in silico* et notamment le « screening » inverse sont des technologies clés pour atteindre cet objectif de manière efficace. La pharmacognosie inverse permet d'identifier de quel organisme est issu une molécule responsable d'une activité biologique et la voie métabolique dans laquelle elle est impliquée. Une des retombées très intéressante de cette approche est que non seulement elle apporte la preuve des propriétés biologiques des plantes, mais peut également être appliquée à des composés provenant d'autres sources. Ainsi, la pharmacognosie inverse permet d'accélérer la R & D de molécules actives dans le développement d'ingrédients innovants. Cette approche a été appliquée à deux composés naturels.



E-Viniferine dans le site actif PDE4
PPARgamma



Meranzin dans le site actif de

« Solutions reconnues et innovantes
pour les communautés des Sciences du Vivant »
« Eurogentec »

ANTHONY MEUNIER,
MARKETING MANAGER, EUROGENTEC S.A.

Eurogentec, fondée en 1985 comme spin-off de l'Université de Liège (Belgique), représente un fournisseur majeur de produits innovants et de services personnalisés pour les communautés des Sciences du Vivant, à travers ces 3 Unités (BU).

La BU **Life Science Research** dispose d'une large gamme de kits et réactifs pour la recherche en Génomique : Oligonucléotides, PCR et real-time qPCR (nouveaux réactifs TakyonTM) et en Protéomique : Peptides catalogue et à façon (acquisition d'AnaSpec Inc. en 2009) ainsi que des anticorps à façon (Speedy 28-Day exclusif).

La BU **Diagnostic Services** propose son expertise et une assistance technique dédiée dans le cadre de contrat de fabrication de composants (Oligonucléotides BPF et Taq polymérases) pour le diagnostic moléculaire *in vitro*. Elle met également à disposition de ses clients un service de préparation d'essais pré-aliquotés dans un environnement BPF. Le procédé de fabrication des Oligonucléotides BPF est certifié ISO 13485, conforme aux normes BPF avec notamment le contrôle permanent de l'environnement et la complète traçabilité.

La BU **GMP BioManufacturing** est une organisation de fabrication contractuelle (CMO), inspectée par la FDA américaine, possédant un savoir-faire dans le transfert de technologie, le développement de procédés, le scale-up et la fabrication BPF de protéines et d'ADN plasmidiens ainsi que de vaccins pour une utilisation pré-clinique, clinique ou commerciale. Depuis 1994, les zones de production sont approuvées BPF et plus de 85 composants bio-pharmaceutiques différents ont été synthétisés.

Le siège social d'Eurogentec est basé à Liège en Belgique, avec des sites de production en Belgique et en Amérique du Nord, des filiales en France, en Allemagne, au Royaume-Uni, aux Pays-Bas et en Suisse et plus de 30 distributeurs. Eurogentec emploie ± 325 employés incluant plus de 40 docteurs.

En 2010 Eurogentec devient membre de **Kaneka** Corporation, industrie chimique à la pointe de l'innovation basée à Osaka (Japon). Kaneka Corporation emploie ± 8400 employés à travers le monde.

Thème : Produits et services pour les communautés des Sciences du Vivant.

Mots clés : Biologie Moléculaire, Biotechnologie, Diagnostique, Pharmaceutique, BPF, Oligonucleotides, PCR, qPCR, Anticorps, Peptides, Vaccins

Maladies de la réparation de l'ADN: clinique, génétique et cancer

Alain SARASIN

Laboratoire "Instabilité Génétique et Cancer", UMR8200 CNRS, Institut Gustave Roussy, Villejuif.

Les cellules de mammifères ont développé des mécanismes sophistiqués de réponse aux stress génotoxiques produits par des agents endogènes (radicaux libres) ou exogènes (cancérogènes chimiques et physiques, radiations, médicaments). Après une agression génotoxique, les cellules initient un réseau complexe en cascade permettant d'activer de nombreuses protéines cibles dont le rôle primordial sera d'arrêter la progression du cycle cellulaire, d'initier la réparation des lésions de l'ADN et/ou d'induire la mort cellulaire. La voie la mieux analysée concerne la réparation par excision de nucléotides (NER) capable de réparer les lésions qui déforment la structure de l'ADN comme celles induites par les rayons ultraviolets (UV). En absence de réparation fidèle, ces lésions bloquent la transcription et la réplication de l'ADN et peuvent donner naissance à des mutations qui conduiront à terme vers l'initiation de cancers.

Il existe deux voies du NER : une voie correspondant à la réparation des gènes activement transcrits et une voie correspondant à la réparation du reste du génome. Ces voies de réparation sont tellement importantes que leur dysfonctionnement donne naissance à des maladies génétiques gravissimes, comme le syndrome de Cockayne (CS) et le xeroderma pigmentosum (XP). Ces maladies sont rares, génétiques, autosomales et transmises de façon récessive.

La caractéristique majeure des malades CS réside dans des anomalies de croissance, des désordres neurologiques progressifs et un vieillissement précoce conduisant à un décès relativement rapide. Ces symptômes sont supposés être liés à l'absence de réparation de lésions endogènes peut-être induits par des radicaux libres (ROS). Ceci permettrait d'expliquer l'apparition des désordres neurologiques qui ne sont évidemment pas dus aux UV. Dans cette hypothèse, des thérapies permettant une meilleure protection et défense vis à vis des ROS sont à proposer chez ces malades.

Le XP est caractérisé par une hypersensibilité au soleil et des anomalies au niveau cutané et oculaire dès la plus jeune enfance. En absence de protection totale, les tumeurs cutanées sont présentes dès l'âge de 4-5 ans. Les malades mutés sur le gène *XPC* ou *XPE* ne sont déficients que dans la réparation globale et leur réparation liée à la transcription reste fonctionnelle. Cette caractéristique leur assure une neurologie tout à fait normale. Par contre, les malades XP-A, XP-B et XP-D sont déficients dans les deux voies de réparation ce qui leur induit, non seulement un taux élevé de cancers cutanés comme les XP-C, mais aussi des déficiences de croissance et d'anomalies neurologiques majeures, proches des malades CS.

Nous avons développé, en collaboration avec la société Collectis, un projet de thérapie génique dans les cellules de malades XP-C. Nous avons réussi à corriger une mutation fondatrice, retrouvée majoritairement en Afrique du Nord, par recombinaison homologue, suite à l'induction d'une cassure double brin par une méganucléase ou un TALEN construit de façon spécifique pour cliver au niveau de la mutation *XPC* à corriger. Cette technologie apporte un espoir pour un traitement à long terme des malades.

POSTERS

Filière A

P1 - Identification d'altérations génétiques du complexe protéique lié au récepteur NMDA à partir de l'étude de 100 familles avec autisme

Servane Alirol, Sylviane Marouillat, Agathe Paubel, Patrick Vourc'h, Christian Andres, Catherine Barthelemy, Dominique Campion, Nathalie Juteau, Annick Toutain, Eric Lemonnier, Philippe Goupille, Frédérique Bonnet-Brilhault, Frédéric Laumonnier.....

p41

P2 - LL-37 : Un nouvel inhibiteur de la cathepsine L ?

P. M. Andrault, G. Weber, L. Coquet, T. Jouenne, S. Samsonov, M. T. Pisabarro, G. Lalmanach et F. Lecaille.....

p42

P3 - Caractérisation d'un transporteur de glucose insulino-sensible chez le poulet : GLUT-12

Coudert E, Dupont J, Simon J, Crochet S, Cailleau-Audouin E, Duclos MJ, Tesseraud S, Métayer-Coustard S.....

p43

P4 - Implication des canaux sodiques Na_v1.5 dans l'invasivité des cellules cancéreuses mammaires et le développement métastatique.

Virginie Driffort, Séverine Marionneau-Lambot, Thibault Oullier, Marie-Lise Jourdan, Christine Collin, Virginie Joulin, Jean-Yves Le Guennec, Jean-Christophe Pages, Philippe Bougnoux, Sébastien Roger, Pierre Besson.....

p44

P5 - Rôle d'ATRX dans le maintien des télomères des cellules de gliomes

Michel CHARBONNEAU, Nathalie GRANDIN, Rita EID.....

p45

P6 - Development of a molecular toolbox dedicated to the genetics of *Candida guilliermondii*

Emilien Foureau, Vincent Courdavault, Arnaud Lanoue, Joël Crèche, Nathalie Giglioli-Guivarc'h, Marc Clastre, Nicolas Papon.....

p46

P7 - Characterization of potassium currents in relation to Methyl Jasmonate signaling in plant cell protoplasts

Anthony Guihur, Lucie Clarysse, Olivier Pichon, Christophe Vandier, Nathalie Giglioli-Guivarc'h.....

p47

P8- Metabolic profiling of grape canes stilbenoids in grape varieties grown in the Loire valley.

Houillé B, Delanoue G, Boudesocque L, Courdavault V, Besseau S, St-Pierre B, Courtois M, Enguehard-Gueiffier C, Giglioli-Guivarc'h N, Guerin L, Lanoue A.....

p48

P9 - L'antraquinone émodine inhibe l'invasivité des cellules cancéreuses humaines par antagonisme du récepteur P2X7.

Bilel Jelassi, Monique Anchelin, Julie Chamouton, María Luisa Cayuela, Jacques Goré.....

p49

P10 - Les cathepsines à cystéine humaines dans la fibrose pulmonaire

M. Kasabova, A. Joulin-Giet, F. Lecaille, S. Marchand-Adam, A. Saidi, G. Lalmanach.....

p50

P11 - Caractérisation de la MMP-12 humaine recombinante et comparaison avec l'homologue murin

Anne-Sophie Lamort, Rodolphe Gravier, Anni Laffitte, Luiz Juliano, Marie-Louise Zani et Thierry Moreau.....

p51

P12 - Quantification et caractérisation des protéines intervenant dans la minéralisation de la coquille d'œuf de poule

P. Marie, V. Labas, G. Harichaux, A. Brionne, Y. Nys and J. Gautron.....

p52

P13 - Curcumin nanocarriers designed for a topical use and their stability in hydrogels <i>H.T.P. Nguyen, E. Munnier, X. Perse, I. Chourpa and S. Cohen-Jonathan</i>	p53
--	-----

Filière B

P14 - L'inhibition de la fonctionnalité de P2Y11 en situation d'ischémie-reperfusion diminue l'activation et les propriétés allo-stimulatrices des cellules dendritiques humaines <i>S Chadet, C Salmon Gandonnière, C Baron, D Babuty, F Velge Roussel, S Roger, D Angoulvant</i>	p54
P15 - Adaptation génomique à différents hôtes - Qu'est-ce qu'un virus mieux adapté ? <i>Aurélien Chateigner; C Pontleve; D Jiolle; A Hébert; C Labrousse; A Bézier; EA Herniou</i>	p55
P16 - Vaccination néonatale avec un toxoplasme atténué : immuno-stimulation et contrôle du développement de la cryptosporidiose <i>Audrey Gnahoui-David, Dr Fabrice Laurent, Dr Marie-Noelle Mevelec, Dr Edouard Sèche</i>	p56
P17 - Etude des peptides anti-microbiens au cours de l'infection des souriceaux nouveau-nés par <i>Cryptosporidium parvum</i> <i>William Guesdon, Laurent Potiron, Louis Lantier, Françoise Drouet, Fabrice Laurent et Sonia Lamandé</i> .	p57
P18 - Impact de la signalisation dépendante du canal calcique TRPV4 sur l'inflammation pulmonaire <i>Clémence Henry, Emilie Dalloneau, Déborah Bréa, Rose Aimar, Thomas Baranek, Marie Potier-Cartereau, Frédéric Esnard, Christophe Vandier et Mustapha Si-Tahar</i>	p58
P19 - Un système toxine/antitoxine impliqué dans la stabilité de SGI1 ? <i>Kévin Huguet</i>	p59
P20 - Modifications des cellules dendritiques humaines et des lymphocytes T CD8 par des lymphocytes T régulateurs et par des lymphocytes T effecteurs. <i>I Kasma, R Lemoine, Y Lebrachu, F Velge-Roussel, C Baron</i>	p60
P21 - Ciblage des cellules dendritiques et pilotage de ses propriétés immuno-modulatrices contre la toxoplasmose <i>Z. Lakhrif, M-N. Mevelec, A. Di Tommaso, M. Juste, I. Dimmier-Poisson, N. Aubrey</i>	p61
P22 - Evaluation des propriétés anti-toxoplasmiques d'un composé à visée inhibitrice de CDPK1 <i>Espérance Moine, Isabelle Dimier-Poisson, Cécile Enguehard-Gueiffier, Mélanie Pouvreau, Caroline Denevault-Sabourin, Françoise Debierre-Grockiego</i>	p62
P23 - L'opéron métabolique <i>frz</i>-like chez <i>Streptococcus agalactiae</i> : lien entre le métabolisme des sucres et virulence. <i>Kévin Patron, Emilie Camiade, Laurent Mereghetti</i>	p63
P24 - Deciphering why <i>Salmonella Gallinarum</i> is <i>in vitro</i> less invasive than <i>Salmonella Enteritidis</i> <i>Aurore Rossignol, Sylvie Roche, Isabelle Virlogeux-Payant, Olivier Grepinet, Louise Bauge, Jérôme Trotereau, Agnès Wiedemann, Valentin Loux, Hélène Chapello, Jennifer Fredlund, Jost Enninga and Philippe Velge</i>	p64
P25 – Accès à une nouvelle famille d'anticoccidiens <i>Laurence Silpa, Julien Pétrignet, Fabien Brossie^b, Mohamed Abarbri</i>	p65

Filière C

P26 - Projet Kinochemometrics : Identification rapide d'inhibiteurs efficaces et sélectifs de protéines kinases <i>Nicolas Bosc, Christophe Meyer, Pascal Bonnet</i>	p66
P27 - Régulation hormonale de la biosynthèse des lignanes chez le lin cultivé <i>Cyrielle Corbin, Cédric Decourtil, Ivan Mateljak, Christelle Dutilleul, Nathalie Giglioli Guivarc'h, Daniel Auguin, Eric Lainé, Christophe Hano</i>	p67
P28 - Interaction du récepteur 5-HT₆ de la sérotonine avec la neurofibromine : études moléculaire et cellulaire <i>Wissem Deraredj, Laetitia Cobret, Fabienne Godin, Fahima Madouri, Hélène Bénédicti et Séverine Morisset</i>	p68
P29 - Caractérisation d'un facteur de transcription de type RR-B et de son implication dans une voie de signalisation de type « osmosensing » chez le Peuplier <i>I. Djeghdir, L. Bertheau, F. Chefdor, G. Glevarec, V. Courdavault, F. Hericourt, C. Depierreux, D. Morabito, F. Brignolas, A. Oudin, S. Carpin</i>	p69
P30 - Étude des propriétés de moteur moléculaire du facteur de transcription Rho de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>. <i>D'Heygere François, Schwartz Annie & Boudvillain Marc</i>	p70
P31 - élvirance de siRNA dans les métastases pulmonaires par des lipopolyplexes ciblés. <i>Gosselin MP, Gonçalves C., Malard V., Ezzine S., Baril P., Pichon C. et Midoux P</i>	p71
P32 - Thioglycoligases : catalyseurs innovants de thioglycosides <i>Laure Guillotin, Pierre Lafite, Richard Daniellou</i>	p72
P33 - Structure génétique et potentiel dispersif de <i>Monochamus galloprovincialis</i> (Coleoptera, Cerambycidae), vecteur du nématode du pin (<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>) en Europe. <i>Julien Haran, Christelle Robinet, Alain Roques, Géraldine Roux</i>	p73
P34 - Perturbations neuroblastiques induites par une exposition périnatale à un herbicide. <i>Ameziane Herzine, Anthony Laugeray, Olivier Richard, Céline Montnecot-Dubourg, Stéphane Mortaud...</i>	p74
P35 - Etude du mécanisme d'échange de chaînes des dimères de la protéine HU par des méthodes biophysiques et biochimiques <i>Rémy Le Meur, David Giinguene, Norbert Garnier, Martine Cadène, Karine Loth, Céline Landon & Bertrand Castaing</i>	p75
P36 - Effects Of Low Dose Sclerostin Antibody On Bone Formation In Ovariectomized Rats: Cumulative Effects Of Physical Exercise? <i>Mazor M., Coursier R., Pallu S., Lespessailles E., Toumi H</i>	p76
P37 - Effet des niveaux de population du ravageur <i>Ips sexdentatus</i> (Col. Scolytinae) sur la composition des assemblages de ses insectes associés. <i>Pineau X., Auffray T., Jactel H., Lieutier F. Sallé A</i>	p77
P38 - New clues for understanding nuclear mRNA quality control in <i>S. cerevisiae</i> by the use of Rho expression system <i>Igor Stuparević, Christine Mosrin-Huamán, Nadège Hervouet-Coste, Mateja Remenarić and A. Rachid Rahmouni</i>	p78
P39 - Critical role of TNFR1 on myeloid cells for host response to <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Segueni Noria, Bourigault Marie-Laure, Rose Stéphanie, Kollias George, Armaka Marietta, Ryffel Bernhard, Quesniaux Valérie F.J</i>	p79

Filière D

P40 - Elevated-temperatures generate morphological and expressional impacts on germ cells and somatic cells of juvenile gonads during sexual maturation in a teleost fish: the Nile tilapia, <i>Oreochromis niloticus</i>.	
<i>Marie-Raphaëlle Almin, Helena D'Cotta, Elodie Pepey, Marc Canonne, Jean-François Baroiller</i>	p80
P41 - Geographic variations in the chemical profile of <i>Polistes biglumis</i> populations on the Alps	
<i>Bonelli M., Bagnères A.-G., Lorenzi M.C.</i>	p81
P42 - Influence de l'âge et du temps inter-stimulus sur l'effet de difficulté séquentielle en mémoire	
<i>Burger, Lucile, Uittenhove, Kim; Lemaire, Patrick, & Taconnat, Laurence</i>	p82
P43 - Effects of developmental exposure to 17-alpha-ethinylestradiol in adult mouse: euroendocrine and behavioral outcomes	
<i>Derouiche L., Duittoz AH., Pillon D.</i>	p83
P44 - Neuroinflammation et dépression : étude des effets d'un anti-inflammatoire non stéroïdien sur la dépression dans un modèle murin.	
<i>Thomas Gosselin, Bruno Brizard, Anne-Marie Le Guisquet, Catherine Belzung Frédéric Minier, Caroline Hommet</i>	p84
P45 - Energétique chez les insectes hématophages	
<i>Miguel Leis, Marcos Pereira & Claudio Lazzari</i>	p85
P46 - Activité fonctionnelle des récepteurs à la mélatonine (MT1, MT2) dans la glande pinéale d'ovin	
<i>Julie Lépinay, Dominique Gennetay, Didier Chesneau, Philippe Delagrangé*, Catherine Taragnat et Véronique Bozon</i>	p86
P47 - Long-term odor recognition memory in Depression and Alzheimer's Disease	
<i>Marine Naudin Karl Mondon, Wissam El-Hage, Thomas Desmidt, Catherine Belzung^a Philippe Gaillard, Caroline Hommet, Boriana Atanasova</i>	p87
P48 - Analyse du fluide utérin de <i>Gallus gallus</i> par spectrométrie de masse "bottom up" : comparaison de deux lignées de poules et effet de l'insémination artificielle.	
<i>C. Riou, G. Harichaux, K. Soutonie, A. Brionne, J. Gautron, V. Labas, N. Gérard</i>	p88
P49 - Analyse protéomique des fluides du tractus génital de brebis au cours du cycle.	
<i>Soleilhavoup C, Riou C, Tsikis G, Gerard N, Labas V, Harichaux G, Druart X</i>	p89

Posters de participants

P50 - Variabilité de l'efficience d'utilisation de l'eau chez le blé	
<i>Sylvain Chamaillard, Isabelle Le Jan, Régis Fichot et Franck Brignolas</i>	p90
P51 - Production de radionucléides au Cyclotron d'Orléans	
<i>Da Silva, T. Sauvage, F. Duval, J.P. Trasbot, P. Rifard, W. Hate, P. Sigot, Y. Ben-Sahra</i>	p91
P52 - Utilisation des isotopes stables ¹³C et ¹⁸O dans l'estimation de l'efficience d'utilisation de l'eau des peupliers euraméricains	
<i>Marjolaine Couronne, Lionel Récard, Cécile Vincent, Muriel Feinard-Duranceau</i>	p92

P53 - Phénotypage moléculaire de la semence de poulet par différentes approches protéomiques <i>Valérie Labas, Isabelle Grasseau, Sabine Alves, Marie Bourin, Karine Cahier, Audrey Gargaros Grégoire Harichaux, Ana-Paula Teixeira-Gomes, Nadine Gérard, Elisabeth Blesbois</i>	p93
P54 - Imagerie par spectrométrie de masse :nouvelle technologie en Région Centre. <i>V. Labas, S. Canépa, F. Foulon, G. Harichaux, Y. Le Vern, L. Sedano, A.P. Teixeira-Gomes S. Uzbebova, C. Taragnat</i>	p94
P55 - Plateforme RMN collaborative de biologie structurale. <i>Hervé Meudal, Karine Loth, Laurence Jouvensal, Françoise Paquet et Céline Landon</i>	p95
P56 - Etude du rôle de la caspase-1 dans l'asthme allergique induit par l'allergène d'acarien HDM (House Dust Mite) <i>Fahima Madouri Noëlline Guillou, Louis Fauconnier, Tiffany Marchiol, Lionel Apetoh, François Ghiringhelli, Fabrice Trovero, Valérie Quesniaux, Bernhard Ryffel and Dieudonnée Togbe</i>	p95
P57 - SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF TRI-HETEROCYCLIC DERIVATIVES AS NOVEL CYCLIN-DEPENDANT KINASES INHIBITORS <i>Christine Baltus, Gildas Prié, Christophe Marot, Fabrice Gouilleux, Marie-Claude Viaud-Massuard</i>	p96
P58 - Effet des ultrasons sur les fibres de lin et de coco <i>Sullivan Renouard, Jean-Philippe Blondeau, Pierre Ouagne et Eric Laine</i>	p97
P59 - Fonctionnalisations directes métallo-catalysées d'énamides <i>R. Rey Rodriguez, N. Gigant, P. Bouyssou and I. Gillaizeau</i>	p98
P60 - Le laboratoire de Bioséparations de la plate-forme PAIB² <i>A.P. Teixeira-Gomes</i>	p99
P61 – Développement d'une nouvelle méthodologie pour la synthèse totale de protéines. <i>Victor Terrier, Hélène Adihou, Mathieu Arnould, Agnès Delmas, Vincent Aucagne</i>	p100

Identification d'altérations génétiques du complexe protéique lié au récepteur NMDA à partir de l'étude de 100 familles avec autisme

Servane ALIROL^{1,2}, Sylviane MAROUILLAT^{1,2}, Agathe PAUBEL^{1,2,3}, Patrick VOUREC^{1,2,3}, Christian ANDRES^{1,2,3}, Catherine BARTHELEMY^{1,2,3}, Dominique CAMPION⁴, Nathalie JUTEAU^{3,5}, Annick TOUTAIN^{1,2,3}, Eric LEMONNIER⁶, Philippe GOUPILLE^{3,5}, Frédérique BONNET-BRILHAULT^{1,2,3}, Frédéric LAUMONNIER^{1,2,3}

(1) INSERM UMR930, Tours, France, (2) Université François-Rabelais, Tours, France, (3) Centre Hospitalier Régional Universitaire, Tours, France, (4) INSERM UMR1079, Rouen, France, (5) INSERM CIC 0202, Tours, France, (6) Centre Hospitalier Régional Universitaire, Brest, France.

L'autisme est un trouble neuro-développemental dont la prévalence est actuellement estimée à 1 enfant sur 100, et représente un problème majeur de santé publique. Depuis une vingtaine d'années, de nombreuses études épidémiologiques ont montré que l'autisme a une forte hétérogénéité clinique et génétique. À ce jour, plus de 100 gènes ont été impliqués de manière formelle et aboutissent à des altérations ciblant la structure et la fonction synaptique, dont le complexe multi-protéique lié au récepteur NMDA (NRC).

Notre projet de recherche a consisté à effectuer une étude génétique globale sur 100 familles françaises incluant au moins un sujet autiste (projet « Neurophysiological, Molecular and Developmental Analysis of the Glutamate Synapse in Autism - ClinicalTrials.gov NCT01770548). Pour chaque famille, nous avons d'une part recherché des variations du nombre de copies de gènes (CNV) en utilisant des puces à ADN à haute résolution. D'autre part, nous avons procédé à une analyse de 216 gènes incluant ceux du complexe NRC (185) par l'approche de capture d'exons (SureSelect, Agilent) et de séquençage à haut-débit.

Les résultats préliminaires de notre étude ont permis d'identifier des CNV impliquant des gènes à expression neuro-développementale, déjà connus (*MACROD2*) ou nouveaux candidats dans l'autisme (*NXPH3*). De plus, les premières analyses de la capture d'exons ont révélé des mutations tronquantes dans plusieurs gènes du complexe NRC.

Cette étude permet ainsi de souligner l'implication particulière de ce complexe dans l'autisme et de proposer l'analyse de ces gènes en approche de dépistage génétique.

Thème : Génétique de l'autisme

Mots-clés : Autisme, gène synaptiques, récepteur NMDA, analyse génétique à haut-débit.

LL-37 : UN NOUVEL INHIBITEUR DE LA CATHEPSINE L ?

P. M. Andrault¹, G. Weber², L. Coquet³, T. Jouenne³, S. Samsonov⁴, M. T. Pisabarro⁴,
G. Lalmanach¹ et F. Lecaille¹

¹INSERM UMR 1100, Pathologies Respiratoires: protéolyse et aérosolthérapie, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Université François Rabelais, Tours, ²INSERM UMR 1069, Nutrition Croissance et Cancer, Université François Rabelais, Tours, ³CNRS UMR 6270, Plate-forme de Protéomique " PISSARO " de l'IRIB, Université de Rouen, Mont-Saint-Aignan. ⁴ Structural Bioinformatics, BIOTEC Technische Universität Dresden, Dresden, Allemagne

Lors de pathologies pulmonaires (mucoviscidose, asthme, emphysème, BPCO), l'inflammation chronique de l'épithélium respiratoire résulte en partie du dérèglement de la balance protéases-antiprotéases en faveur de la protéolyse. Ainsi, les cathepsines à cystéine participent à la dégradation anarchique du tissu bronchique et à l'altération des mécanismes de défense antimicrobiens en hydrolysant certains peptides/protéines antimicrobiens (AMPs) (lactoferrine, β -défensines, SLPI, protéines du surfactant). Cependant aucune étude n'a actuellement démontré la capacité éventuelle des cathepsines à dégrader le peptide antimicrobien LL-37, qui joue un rôle important dans l'immunité innée aux côtés des autres AMPs. Le LL-37, un peptide cationique de 37 résidus structuré en hélice α n'est pas hydrolysé par la cathepsine L contrairement aux cathepsines K et S et dans une moindre mesure par la cathepsine B. LL-37 inhibe spécifiquement la cathepsine L selon un mécanisme compétitif et réversible ($K_i = 150$ nM). L'inhibition est levée en présence de concentrations croissantes en NaCl, suggérant que les interactions entre LL-37 et la cathepsine L sont de nature électrostatique. De plus, deux peptides dérivés du LL-37, l'énantiomère D ainsi qu'un peptide aléatoire (même composition en acides aminés), ne présentent aucun potentiel inhibiteur vis à vis de la cathepsine L. Par une approche de mutagénèse dirigée, deux résidus (Tyr67 et Ala205) du site actif de l'enzyme ont été identifiés comme critiques dans le mécanisme d'inhibition. D'autre part, des études de modélisation moléculaire suggèrent que LL-37 se positionne dans le sillon du site actif de la cathepsine L en position inversée par rapport à un substrat, ce qui expliquerait sa résistance à la protéolyse vis à vis de la cathepsine L. Enfin, l'activité antimicrobienne (*E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*) du LL-37 n'est pas modifiée en présence de la cathepsine L.

Caractérisation d'un transporteur de glucose insulino-sensible chez le poulet : GLUT-12

Coudert E¹, Dupont J², Simon J¹, Crochet S¹, Cailleau-Audouin E¹, Duclos MJ¹, Tesseraud S¹, Métayer-Coustard S¹

¹ INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly ; ² INRA, UMR85, PRC, F-37380 Nouzilly.

Le tissu musculaire est quantitativement le premier compartiment de captage et de stockage du glucose à des fins énergétiques, sous forme de glycogène. Chez les mammifères, l'entrée de glucose dans le muscle est une étape limitante assurée par un transporteur spécifique insulino-sensible (GLUT-4) qui, en réponse à l'insuline, migre depuis les vésicules intracellulaires vers la membrane plasmique. L'existence de ce transporteur chez les oiseaux reste controversée. Chez le poulet, une séquence prédite codant un transporteur homologue à GLUT-12, un second transporteur de glucose insulino-sensible chez les mammifères, a été rapportée.

Nous montrons que l'ARNm codant pour GLUT-12 est exprimé dans deux tissus insulino-sensibles, le muscle squelettique et le cœur de poulet (RT-PCR). La distribution protéique analysée par Western blot indique que la protéine GLUT-12 est présente dans les mêmes tissus. La régulation de GLUT-12 a ensuite été caractérisée *in vivo* dans le muscle de poulet avec différents modèles expérimentaux : à jeun, immuno-neutralisés pendant 5h (par injection d'anticorps anti-insuline) et nourris. Les niveaux d'ARNm codant GLUT-12 dans le muscle squelettique sont significativement plus faibles chez les animaux à jeun et immuno-neutralisés comparés aux animaux nourris. De plus, la bande immuno-réactive GLUT-12 apparaît plus abondante dans les membranes cellulaires musculaires une heure après injection d'insuline par rapport au régime à jeun indiquant une potentielle translocation du transporteur GLUT-12 à la membrane en réponse à la stimulation insulinique. Nos résultats démontrent, pour la première fois la présence et la régulation d'un transporteur de glucose insulino-sensible dans le muscle squelettique de poulet : GLUT-12.

Thème : Métabolisme et régulations

Mots clés : Muscle, transport de glucose, métabolisme glucidique, insuline

Implication des canaux sodiques Na_v1.5 dans l'invasivité des cellules cancéreuses mammaires et le développement métastatique.

Virginie DRIFFORT¹, Séverine MARIONNEAU-LAMBOT³, Thibault OULLIER³, Marie-Lise JOURDAN¹, Christine COLLIN⁴, Virginie JOULIN⁵, Jean-Yves LE GUENNEC⁶, Jean-Christophe PAGES⁴, Philippe BOUGNOUX^{1,2}, Sébastien ROGER¹, Pierre BESSON¹.

¹ Université François-Rabelais, INSERM 1069, TOURS ; ² CHRU, TOURS ; ³ Plate-forme *in vivo* du Cancéropôle Grand Ouest, NANTES ; ⁴ Université François-Rabelais, INSERM 966, TOURS ; ⁵ Institut Gustave Roussy, VILLEJUIF ; ⁶ Université Montpellier1, INSERM 1046, MONTPELLIER

L'expression anormale du canal sodique Na_v1.5, dans le cancer du sein, est corrélée au développement métastatique et à une mortalité augmentée. Ce canal Na_v1.5, ainsi que trois de ses sous-unités régulatrices (β1, β2 et β4), sont exprimés dans les cellules cancéreuses mammaires humaines MDA-MB-231 et son activité potentialise leur invasivité en favorisant la dégradation de la matrice extracellulaire. Lorsque son activité est inhibée (bloqueurs pharmacologiques) ou son expression diminuée (ARN interférents, shNa_v1.5), l'invasivité est réduite de 30%, et la croissance de colonies de cellules cancéreuses de près de 80%. Une étude préliminaire *in vivo* montre une forte colonisation des poumons après injection des cellules MDA-MB-231 qui expriment Na_v1.5 (shRD) dans la veine caudale de souris nude. En revanche l'injection des cellules MDA-MB-231 shNa_v1.5, qui n'expriment plus le canal Na_v1.5, n'induit pas de colonisation pulmonaire détectable *in vivo*. Nos résultats suggèrent que l'expression anormale de Na_v1.5 dans les cellules cancéreuses mammaires favorise le développement métastatique. Ce canal sodique Na_v1.5 pourrait représenter une cible pharmacologique pour de nouveaux traitements anticancéreux.

Rôle d'ATRX dans le maintien des télomères des cellules de gliomes

Michel CHARBONNEAU (DR2 CNRS), Nathalie GRANDIN (CR1 CNRS), Rita EID (doctorante 2^{ème} année de thèse, Ministère)

Unité CNRS UMR n°7292 – Equipe : Télomères et stabilité du génome, Université François Rabelais, UFR Pharmacie – Tours.

ATRX est une protéine multifonctionnelle qui s'associe à des séquences répétitives du chromosome humain et participent au remodelage de la chromatine. Elle apparaît comme composante régulatrice clé de la dynamique du nucléosome exerçant des effets multiples sur l'activité de la chromatine, y compris la mitose, la méiose, la régulation des gènes, la protection des télomères, la réplication de l'ADN. Les télomères qui constituent les extrémités des chromosomes sont érodés au fil des divisions cellulaires suite à l'inhibition naturelle de la télomérase ; Les cellules cancéreuses doivent donc maintenir des télomères fonctionnels pour proliférer. La plupart des tumeurs maintiennent des télomères fonctionnels grâce à la réactivation de la télomérase. Certaines tumeurs dont les gliomes (tumeurs intracrâniennes) que nous étudions au laboratoire, peuvent aussi maintenir la taille de leurs télomères par un mécanisme indépendant de la télomérase. Ces cellules télomérase-négatives possèdent des télomères très longs et de taille hétérogène allant de 1Kb à 50Kb. Dans ces cellules, l'allongement des télomères est basé sur des phénomènes de recombinaison homologue non réciproques entre répétitions télomériques, il s'agit du phénomène ALT (Alternative lengthening of telomeres). Des études cliniques ont montré qu'il existe une relation étroite entre la présence de mutation dans ATRX et l'apparition de la voie ALT. On s'est intéressés, en premier lieu, à savoir si l'inhibition d'ATRX peut déclencher directement l'activation de cette voie de maintenance des télomères : ALT. Nous avons ensuite étudié les effets de l'inhibition d'ATRX sur les télomères des cellules de gliomes tout en mesurant : les dommages à l'ADN, la longueur des télomères et le niveau d'expression des TERRA (ARN non codants contenant des séquences télomériques).

Thème : Cancer et télomères ET Mots-clés : Gliomes, ATRX, ALT, télomères

Development of a molecular toolbox dedicated to the genetics of *Candida guilliermondii*

Emilien Foureau, Vincent Courdavault, Arnaud Lanoue, Joël Crèche,
Nathalie Giglioli-Guivarc'h, Marc Clastre, Nicolas Papon

EA2106, Biomolécules et Biotechnologies Végétales,
Université François-Rabelais de Tours, France

Candida guilliermondii (teleomorph *Meyerozyma guilliermondii*) is an ascomycetous species belonging to the Saccharomycotina CTG clade which has been studied over the last 40 years due to its biotechnological interest, biological control potential and clinical importance. Such a wide range of applications in various areas of fundamental and applied scientific research has progressively made *C. guilliermondii* an attractive model for exploring the potential of yeast metabolic engineering as well as for elucidating new molecular events supporting pathogenicity and antifungal resistance. To obtain an insight into the mechanisms of pathogenesis as well as its ability to overproduce valuable biocompounds, a robust molecular toolbox especially dedicated to *C. guilliermondii* genetics has been progressively developed over the last decade. Here we describe some examples of molecular tools worked out by our lab including reporter genes (fluorescent proteins, beta-galactosidase) as well as selectable markers.

Characterization of potassium currents in relation to Methyl Jasmonate signaling in plant cell protoplasts

Anthony Guihur¹, Lucie Clarysse², Olivier Pichon¹, Christophe Vandier², Nathalie Giglioli-Guivarc'h¹

1. Université François Rabelais de Tours. EA 2106 « Biomolécules et Biotechnologies végétales », 37200, Tours, France.

2. Université François Rabelais de Tours. Inserm U1069 « Nutrition, Croissance & Cancer », 37032, Tours, France.

Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus*) is an important medicinal plant which produces a large amount of terpenoid indole alkaloids. Some of them such as the antitumor dimeric alkaloids, vincristine and vinblastine are of pharmaceutical importance. However, these anticancer compounds are produced at a very low level *in planta*, leading to their high price on the market. Several ways to enhance this metabolism *in vivo* are currently studied. In this context, we have shown that the biosynthesis of valuable MIA is up-regulated by Methyl Jasmonate (MeJa), a phytohormone, both *in planta* and in *C. roseus* C20D cell suspension. In tobacco, Heterotrimeric G-protein have been involved in MeJa signalling pathway, and implicated in the modulation of ionic currents. The aim of the work presented here was to investigate the link between potassium channels and MeJa signal transduction pathway that lead to the activation of alkaloid production, *via* heterotrimeric G-protein. Using whole-cell configuration of patch-clamp technique we had to blow up technical bottlenecks, thus we worked on *C. roseus* C20D protoplasts which have been isolated following an optimized enzymatic procedure. Through this study we were able to obtain sustainable and responding to MeJa *C. roseus* C20D protoplasts. We have shown for the first time in a medicinal plant cell system the presence of inward potassium currents that are modulated by MeJa by reducing the entry of positively charged ions independently of heterotrimeric G-protein. This study suggests the possible role of potassium channels in MeJa transduction pathway. Thus, the regulatory mechanisms that control the MIA biosynthetic pathway could be different from of the “classical” and described way.

Thème : Plant physiology

Mots clés : *Catharanthus roseus*, monoterpene indole alkaloids, potassium channels,

Metabolic profiling of grape canes stilbenoids in grape varieties grown in the Loire valley.

Houillé B1, Delanoue G2, Boudesocque L3, Courdavault V1, Besseau S1, St-Pierre B1, Courtois M1, Enguehard-Gueiffier C3, Giglioli-Guivarc'h N1, Guerin L2, Lanoue A1

1 Biomolécules et Biotechnologies Végétales, EA 2106, Université François-Rabelais de Tours, France, 2 Institut Français de la Vigne et du Vin, Tours, France, 3UMR INRA 1282 ISP, Equipe Innovation en Chimie Médicinale, Université François-Rabelais de Tours, France.

Grape canes a non-recycled waste of wine industry (1-5 tons per hectare per year) may have considerable potential as a source of bioactive compounds, especially resveratrol oligomers and other polyphenols. Resveratrol and wine polyphenols are known to exert HEALTH-PROMOTING effects including antioxidant capacity, cardioprotection, anticancer activity, anti-inflammatory effects, and estrogenic/antiestrogenic properties (Keskin et al. 2009). Additionally, resveratrol is a major phytoalexin produced by plants in response to various stresses and promotes disease resistance (Chang et al, 2011). Our project aims to develop green inputs to fight downy mildew, a major grape disease in the Loire Valley, based on antifungal potential of grape cane extracts. Non commercial compounds were obtained by purification using Centrifugal Partition Chromatography followed by preparative Thin Layer Chromatography. Dimer (Ampelopsin A, *t*-e-viniferin) and tetramer (Hopeaphenol, Isohopeaphenol and Vitisin B) of resveratrol were purified and the structures were confirmed by ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopy. The stilbenoid composition of grape canes from various grape varieties grown in the Loire valley (Côt, Cabernet franc, Sauvignon and Gamay,) was analyzed by ultra high pressure liquid chromatography coupled with mass spectrometry and diode array detection.

L'anthraquinone émodine inhibe l'invasivité des cellules cancéreuses humaines par antagonisme du récepteur P2X7.

Bilel Jelassi¹, Monique Anchelin², Julie Chamouton¹, María Luisa Cayuela², Jacques Goré¹

Lin-Hua Jiang³ & Sébastien Roger¹

1, Université François-Rabelais de Tours. Inserm U1069, France.

2, University Hospital "Virgen de la Arrixaca" Murcia, Spain.

3, University of Leeds, UK.

Le récepteur P2X7, un canal cationique activé par l'ATP extracellulaire, potentialise l'invasivité des cellules cancéreuses MDA-MB-435s (Jelassi *et al.*, 2011). L'émodine (1,3,8-trihydroxy-6 méthylantraquinone), une anthraquinone isolée à partir de la *Rheum officinale Baill*, présente des propriétés anti-inflammatoires et anticancéreuses. Dans cette étude nous avons testé l'effet de l'émodine sur l'invasivité des cellules MDA-MB-435s dépendante de P2X7. L'émodine, utilisée à des concentrations non-cytotoxiques, bloque le courant ionique ainsi que l'augmentation de calcium intracellulaire induits par P2X7 mais pas ceux engendrés par les autres récepteurs P2X. Le traitement des cellules MDA-MB-435s avec l'ATP entraîne des modifications morphologiques, augmente l'activité gélatinolytique de 60% et potentialise leur invasion d'environ 93%. Ces effets, qui ne sont pas observés dans les cellules transfectées avec le siRNA dirigé contre P2X7, sont totalement inhibés en présence de 1 μ M d'émodine. Enfin l'invasivité *in vivo* des cellules MDA-MB-435s, évaluée grâce au modèle de micrométastase sur embryons de poisson zèbre, est diminué de 40% en présence de 1 μ M émodine. Cet effet de l'émodine n'est pas observé avec les cellules cancéreuses mammaires humaines MDA-MB-468 qui n'expriment pas P2X7. En conclusion, nous avons montré que l'émodine inhibe l'invasion des cellules cancéreuses via l'antagonisme de P2X7 (Jelassi *et al.*, 2013).

Thème : Cancérologie

Mots-clés : Emodine, récepteur P2X7, invasion cellulaire, métastases.

Les cathepsines à cystéine humaines dans la fibrose pulmonaire

M. KASABOVA^{1,2}, A. JOULIN-GIET^{1,2}, F. LECAILLE^{1,2}, S. MARCHAND-ADAM^{1,2}, A. SAIDI^{1,2}, G. LALMANACH^{1,2}

¹ Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Université François Rabelais, Tours, France

² INSERM U1100 « Pathologies Pulmonaires: Protéolyse et Aérosolthérapie », Equipe 2 : « Mécanismes protéolytiques dans l'inflammation » Tours, France

La fibrose pulmonaire est une pathologie sévère, dépourvue de traitement efficace qui se caractérise par l'apparition de lésions au niveau de l'épithélium alvéolaire conduisant au recrutement, à la prolifération et à la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes. Cette différenciation est associée à une synthèse excessive des composants de la matrice extracellulaire ainsi qu'à un dérèglement de la balance protéases-antiprotéases. Les cathepsines à cystéine sont des protéases ayant un rôle essentiel dans l'homéostasie pulmonaire et la dégradation des constituants matriciels. Il a été montré que les cathepsines à cystéine participent à la transformation phénotypique des cellules stellaires lors de la fibrose hépatique (Moles et al., 2009). L'objectif de cette étude était d'évaluer le rôle des cathepsines à cystéine dans la myofibrogenèse et leur contribution potentielle à la physiopathologie de la fibrose pulmonaire chez l'homme. Pour cela le profil d'expression des cathepsines ainsi que de leurs inhibiteurs naturels a été d'abord étudié dans un modèle cellulaire expérimental (différenciation fibroblastes/myofibroblastes), puis dans des myofibroblastes primaires issus d'une biopsie d'un patient atteint de fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) et enfin dans des liquides de lavage broncho-alvéolaires (LBA) de patients atteints de FPI. Nos résultats montrent que lors de la fibrose pulmonaire la cystatine C (inhibiteur naturel des protéases à cystéine) régulerait les activités protéolytiques des cathepsines extracellulaires. D'autre part les cathepsines à cystéine, et en particulier la cathepsine B, participeraient à la différenciation fibroblastique et leur inhibition retarderait la myofibrogenèse.

Mots-clés: Fibrose pulmonaire idiopathique, Cathepsines à cystéine, Myofibroblastes, Cystatines, Inhibiteurs de protéases

Caractérisation de la MMP-12 humaine recombinante et comparaison avec l'homologue murin.

Anne-Sophie Lamort^{1*}, Rodolphe Gravier^{1*}, Anni Laffitte¹, Luiz Juliano², Marie-Louise Zani¹ et Thierry Moreau¹

* Co premiers auteurs

1 - CEPR UMR INSERM U1100/EA 6305 Equipe 2 Mécanismes Protéolytiques dans l'Inflammation, Université de TOURS

2- Escola Paulista de Medicina, Université de SAO PAULO (Brésil)

La broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une maladie pulmonaire caractérisée par une inflammation chronique des voies aériennes associée à une dyspnée et par un emphysème lié à la destruction progressive de la paroi des alvéoles pulmonaires. Ceci conduit de manière irréversible à une altération progressive de la fonction respiratoire. L'incidence de cette maladie essentiellement liée au tabagisme, ne cesse d'augmenter et devrait selon des données de l'OMS devenir la 3^{ème} cause de mortalité au monde en 2020. De nombreux facteurs sont impliqués dans l'apparition de la maladie, notamment un déséquilibre important de la balance protéases/anti-protéases. En effet de nombreuses protéases, dont les protéases à sérine du neutrophile et la MMP-12 de macrophage, sont relarguées dans le poumon suite à l'afflux massif de ces cellules de l'inflammation et à leur activation. Celles ci vont dégrader de manière excessive les protéines constitutives du parenchyme pulmonaire (élastine, collagène,...) et contribuent également à entretenir l'inflammation pulmonaire, favorable à la survenue d'épisodes infectieux bactériens ou viraux.

Beaucoup d'études soulignent l'importance de la MMP-12 dans le développement de la BPCO. Dans le cadre d'une approche visant à inhiber sélectivement la MMP-12 par des anticorps neutralisants, nous avons cloné et exprimé le domaine catalytique de la MMP-12 humaine en système bactérien. Dans le but de caractériser la spécificité enzymatique de la MMP-12 humaine d'une part et de développer de nouveaux substrats sensibles et sélectifs de cette protéase d'autre part, nous avons testé différents substrats peptidiques fluorescents dont les séquences peptidiques sont issues de l'analyse de sites de clivages dans diverses protéines connues pour être substrats de la MMP-12. Nous avons également comparé la spécificité enzymatique de la MMP-12 humaine à celle de la MMP-12 de souris exprimée et purifiée dans les mêmes conditions. Ces résultats permettront d'évaluer la pertinence du modèle murin d'emphysème pulmonaire pour tester l'activité inhibitrice d'anticorps neutralisants anti-MMP-12 *in vivo*.

Mots-clés : protéases, inflammation pulmonaire, BPCO

Quantification et caractérisation des protéines intervenant dans la minéralisation de la coquille d'œuf de poule

P. Marie¹, V. Labas², G. Harichaux², A. Brionne¹, Y. Nys¹ and J. Gautron¹

¹ INRA, UR83 Recherches avicoles, 37380 Nouzilly

² INRA, Plate-forme d'Analyse Intégrative des Biomarqueurs, F-37380 Nouzilly, France

³ INRA, UMR INRA 85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements - UMR CNRS 7247 – Université de Tours - Institut Français du Cheval et de l'Équitation, F-37380 Nouzilly, France

Notre étude porte sur les mécanismes de biominéralisation qui déterminent la solidité de la coquille de l'œuf de poule et qui sont essentiels pour maintenir la stérilité de l'œuf nécessaire au développement de l'embryon et pour assurer au consommateur un œuf exempt de pathogènes. Ce processus est contrôlé par les protéines de la matrice organique de la coquille et nous avons pour la première fois caractérisé et quantifié les protéines présentes aux différents stades physiologiques de formation de la coquille (initiation, croissance et arrêt de la calcification) à l'aide d'approches innovantes utilisant la spectrométrie de masse quantitative.

295 protéines du fluide utérin ont ainsi été caractérisées lors de ces différents stades et 60 présentent une variation significative de leur quantité relative en fonction du stade. 19 sont surabondantes au uniquement au stade initial, 6 au stade croissance et 16 au stade terminal. Une étude fonctionnelle des protéines surabondantes indique que certaines de ces protéines sont connues pour jouer un rôle dans la biominéralisation ou peuvent lier les ions pour interagir avec la phase minérale lors de la calcification. D'autres protéines joueraient un rôle régulateur du processus de minéralisation au sein du fluide acellulaire où se produit la calcification. Le dernier groupe est constitué de protéines antimicrobiennes qui maintiennent la stérilité du milieu. Une analyse fonctionnelle plus précise des protéines est en cours afin de confirmer leur implication dans le processus de calcification.

Thème : Etude de la fonction des protéines impliquées dans un mécanisme biologique

Mots-clés : poule, coquille, biominéralisation, protéomique

Curcumin nanocarriers designed for a topical use and their stability in hydrogels

H.T.P. Nguyen, E. Munnier, X. Perse, I. Chourpa and S. Cohen-Jonathan

EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Université François Rabelais de Tours, France.

Curcumin is a natural molecule extracted from *Curcuma longa* roots. It exhibits numerous pharmacological properties that make it of interest in the treatment of cutaneous pathologies. Nevertheless, the poor skin penetration and water solubility of curcumin limit its topical use. The encapsulation of curcumin in nanocarriers could facilitate its incorporation in hydrogels and increase its skin penetration. Therefore, we encapsulated curcumin lipidic nanocarriers (LNC of 50 or 100 nm). Spectroscopic methods and zetametry were used to characterize curcumin loaded LNC (C-LNC). The antioxidant activity of the encapsulated curcumin was measured with two complementary techniques, testifying that it does not lose its pharmacological properties during the process. C-LNC were then dispersed in hydrogels. The physical stability and the rheological behavior of the LNC – enriched gels were studied in different storage conditions over 6 months (AT, 4°C and 30°C). The size of the gel-dispersed LNC was followed by DLS and showed that they are not destroyed over the process or in the storage conditions. The analysis of the fluorescence spectrum of curcumin showed whether it remained encapsulated in the nanocarriers. We highlighted a hydrogel that seems a good candidate to vehicle curcumin-loaded LNC.

Keywords: nanocarriers, curcumin, antioxidant, hydrogels, microspectroscopy

L'inhibition de la fonctionnalité de P2Y11 en situation d'ischémie-reperfusion diminue l'activation et les propriétés allo-stimulatrices des cellules dendritiques humaines

S Chadet¹, C Salmon Gandonnière¹, C Baron¹, D Babuty³, F Velge Roussel¹, S Roger², D Angoulvant^{1,3}

1, E.A.4245 Cellules dendritiques, Immunomodulation et Greffes ; Université François Rabelais de Tours, 10 Boulevard Tonnellé, 37032 Tours, France. 2, Inserm U1069 Nutrition, Croissance et Cancer ; Université François Rabelais de Tours, 10 Boulevard Tonnellé, 37032 Tours, France. 3 Service de Cardiologie, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours, 37044 Tours cedex, France.

Introduction : Le phénomène d'ischémie-reperfusion (I/R) myocardique est une situation clinique rencontrée dans différentes conditions physiopathologiques telles que la transplantation, la chirurgie cardiaque et l'infarctus du myocarde reperfusé. Après la phase d'ischémie, la restauration du flux sanguin induit des lésions de reperfusion, qui s'additionnent à celles de l'ischémie. Les lésions de reperfusion sont, en partie, le résultat d'une réponse immuno-inflammatoire dans laquelle le rôle des cellules dendritiques a été suggéré. Cependant, l'effet de l'I/R et des alarmines sur l'activation et l'orientation des cellules dendritiques reste à élucider. Notre objectif est d'étudier l'effet de l'I/R sur la signalisation purinergique chez les cellules dendritiques activées par l'alarmine ATP (Adénosine 5' tri-phosphates).

Méthode : Nous utilisons un modèle expérimental *in vitro* pour l'étude des cellules dendritiques humaines différenciées à partir de monocytes CD14. Les cellules sont cultivées en condition ischémique (milieu PBS ; 1% O₂) ou en condition contrôle (milieu de culture ; 21% O₂) durant 1 heure ou 5 heures. Ces cellules sont ensuite soumises à une reperfusion, en présence ou en absence d'ATP. Le rôle du récepteur P2Y11 est étudié dans le niveau d'activation des cellules dendritiques et dans la prolifération des lymphocytes T CD4.

Résultats : Alors que l'I/R simulée *in vitro* ne semble pas jouer de rôle majeur dans le phénotype des cellules dendritiques, l'alarmine ATP extracellulaire induit une maturation dose-dépendante de ces cellules. De manière intéressante, l'effet de l'ATP est inhibé chez les cellules dendritiques stressées par une I/R, suggérant une activité diminuée d'un récepteur purinergique (diminution de 45% après 5h d'I/R). En effet, le récepteur P2Y11 semble être moins fonctionnel chez les cellules dendritiques stressées, à l'origine d'une activation et d'une capacité allo-stimulatrice plus faible (diminution de 43%).

Conclusion : Nos résultats suggèrent que la signalisation purinergique se trouve modifiée en situation d'I/R chez la cellule dendritique. L'inhibition du récepteur P2Y11 chez les cellules dendritiques stressées entraîne une diminution de leur activation et de leur capacité à activer la réponse immunitaire secondaire.

Mots clés : cellule dendritique ; ATP ; récepteur P2Y11 ; ischémie-reperfusion

Adaptation génomique à différents hôtes - Qu'est-ce qu'un virus mieux adapté ?

Aurélien Chateigner; C Pontleve; D Jiolle; A Hébert; C Labrousse; A Bézier; EA Herniou

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR CNRS 6035, Université François Rabelais de Tours, Faculté des Sciences et Techniques, Avenue Monge - Parc Grandmont, 37200 Tours France

La question de l'adaptation au niveau génomique des organismes à leur niche écologique est au cœur des questionnements sur les processus évolutifs, difficilement étudiés en raison de la complexité des génomes et des interactions écologiques. Les baculovirus infectent des insectes et sont transmis par groupe de génomes sous forme de corps d'inclusion contenant plus de 100 virions. Les changements d'hôtes, équivalent à des changements de niches écologiques, entraînent l'adaptation et la différenciation de ces populations de génomes viraux. Pour étudier comment l'adaptation écologique affecte les génomes, nous avons infecté différentes espèces d'hôtes avec une population sauvage de baculovirus. Nous avons découvert par séquençage très haut débit que l'isolat sauvage maintient une haute diversité polymorphique, que quelques mutations de haute fréquence ainsi que des délétions sont localisées dans des gènes impliqués dans des fonctions essentielles et que des SNP sont présents à chaque locus du génome. Ceci suggère que toute mutation potentiellement adaptative est présente dans la population avant l'évolution. Nous avons initié 40 lignées virales expérimentales dans 4 espèces hôtes. Après 10 cycles d'infection, nous avons répété les séquençages pour découvrir quels changements génomiques accompagnent l'adaptation.

Thème : Evolution expérimentale, Adaptation génomique populationnelle

Mots-clés : baculovirus, évolution expérimentale, variations, SNP, adaptation, génomique

Vaccination néonatale avec un toxoplasme atténué : immuno-stimulation et contrôle du développement de la cryptosporidiose

Audrey GNAHOUI-DAVID, Dr Fabrice LAURENT*, Dr Marie-Noelle MEVELEC**, Dr Edouard SECHE***

Bourse CIFRE Vitamfero, laboratoire d'accueil UMR1282 ISP (Infectiologie et Santé Publique) ;

*UMR1282 ISP (Infectiologie et Santé Publique) I.N.R.A. centre de recherche de Tours ;

** UMR1282 ISP (Infectiologie et Santé Publique) UFR des Sciences Pharmaceutiques ;

*** VitamFero Directeur R&D UFR Sciences Pharmaceutiques.

La cryptosporidiose, est une zoonose parasitaire intestinale qui touche tous les sujets dont le système immunitaire est déficient ou immature comme les nouveau-nés. Cette maladie, pour laquelle il n'existe pas, à l'heure actuelle, de traitement complètement efficace, reste aujourd'hui dans les élevages de ruminants la première cause des entérites diarrhéiques des nouveau-nés et est responsable de retard de croissance et de mortalité. Le parasite peut infecter les nouveau-nés dès les premiers jours de vie et son développement au sein de l'épithélium intestinal est lorsqu'il n'est pas fatal, contrôlé en quelques jours grâce à une réponse immunitaire muqueuse efficace impliquant les cytokines IL-12 et IFN γ . L'infection par *Toxoplasma gondii*, un autre protozoaire, est connue pour induire chez son hôte la production de ces mêmes cytokines.

Nous avons fait l'hypothèse que l'administration d'un toxoplasme atténué pourrait jouer le rôle d'immunostimulant du système immunitaire inné chez les nouveau-nés et pourrait ainsi conduire à la réduction de la sensibilité à *C. parvum* tout en protégeant ces animaux contre des infections ultérieure à *T. gondii*. Dans cet objectif nous avons tout d'abord évalué la capacité de la souche vaccinale ToxoKO produite et développée par la société VitamFero à réduire l'incidence de la cryptosporidiose dans un modèle murin puis ovin.

Nous avons observé que l'administration préventive de la souche Toxo KO avant un challenge infectieux par *C. parvum* permet de diminuer le niveau d'excrétion de *C. parvum*. Toutefois, le modèle murin a été abandonné car les souris sont très sensibles à l'infection par *T. gondii* et malgré la forte atténuation de la souche vaccinale, meurent assez rapidement suite à l'injection. Il faut noter que chez les ovins adultes, aucune mortalité n'a été observée lors des études antérieures réalisées par la société VitamFero.

Suite à ces premières expérimentations, nous avons mis en place un modèle ovin nouveau-né afin d'évaluer notre stratégie prophylactique. Dans un premier temps, nous avons testé différentes doses d'administration par voie sous-cutanée afin d'étudier l'innocuité de la souche vaccinale Toxo KO. Une fois la dose vaccinale optimale sélectionnée, et sa capacité à induire une réponse cytokinique dans de multiples organes (intestins, ganglions drainants, rate, sang etc.) validée, nous avons réalisé une nouvelle expérimentation. Comme dans les expériences réalisées avec le modèle murin, la souche vaccinale atténuée Toxo KO a été administrée à des agneaux âgés d'un jour suivie d'une infection d'épreuve par *C. parvum sept jours plus tard*. L'analyse de l'excrétion d'oocystes de *C. parvum* montre que le lot ayant été vacciné avec la souche Toxo KO présente un retard dans l'excrétion parasitaire et une meilleure prise de poids. Ces expérimentations préliminaires nous engagent à poursuivre l'amélioration du processus de vaccination avec le Toxo KO pour contrôler la cryptosporidiose.

Thème : Immunostimulation et Vaccination.

Mots-clés : Apicomplexe, cryptosporidiose, nouveau-nés, immunostimulation, vaccination, vaccin vivant atténué, *Toxoplasma gondii*, protection.

Etude des peptides anti-microbiens au cours de l'infection des souriceaux nouveau-nés par *Cryptosporidium parvum*

William Guesdon, Laurent Potiron, Louis Lantier, Françoise Drouet, Fabrice Laurent et Sonia Lamandé
UMR1282 Infectiologie et Santé Publique (ISP) INRA de Tours – Université François Rabelais

Cryptosporidium parvum est un parasite protozoaire zoonotique appartenant au phylum des Apicomplexes. Il infecte exclusivement les cellules épithéliales intestinales et est responsable de diarrhée dont l'importance varie avec le statut immunitaire de son hôte, ainsi les nouveau-nés et les individus immunodéprimés sont les cibles privilégiées de ce parasite.

Chez les nouveau-nés infectés par *C. parvum*, l'immunité innée est indispensable au contrôle de la phase aiguë de l'infection avec un rôle prépondérant des cellules épithéliales intestinales et des cellules CD11c+. Si certaines études *in vitro* démontrent l'efficacité parasiticide de certains peptides anti-microbiens (PAM) qui sont des acteurs majeurs de la réponse immunitaire innée, sur *C. parvum*, aucune étude n'a jusqu'ici été réalisée pour étudier leur production et leur rôle *in vivo* au cours de l'infection.

Dans cette étude, nous avons réalisé une cinétique d'infection des souriceaux et analysé l'expression de différents PAM dans l'intestin et étudier plus précisément le rôle des cellules épithéliales intestinales (IEC) dans cette réponse. Afin de mieux caractériser cette réponse en PAM, nous avons également étudié la contribution du microbiote intestinal qui est en cours d'installation chez le nouveau-né, dans cette réponse ainsi que l'impact de l'IFN γ produit au cours de l'infection. Nos travaux mettent en évidence que l'expression des lectines de type C, les Reg3 γ et β , est fortement augmentée par l'infection dans l'intestin et les IEC purifiées indépendamment de la présence du microbiote ou de la présence d'IFN γ . Au contraire, l'expression de CRAMP et de CCL20 est significativement diminuée, là encore de manière indépendante de la flore et de l'IFN γ . Des études sont en cours afin de déterminer quel est le rôle de ces PAM produits au cours de l'infection et de définir si le parasite favorise un mécanisme d'échappement lorsqu'il diminue l'expression de CCL20 et de CRAMP chez le souriceau.

Thème : Parasitologie, immunologie

Mots-clés : peptides anti-microbiens, cellules épithéliales intestinales, nouveau-né, *Cryptosporidium parvum*

Impact de la signalisation dépendante du canal calcique TRPV4 sur l'inflammation pulmonaire

Clémence HENRY¹, Emilie DALLONEAU¹, Déborah BREA¹, Rose AIMAR¹, Thomas BARANEK¹, Marie POTIER-CARTEREAU², Frédéric ESNARD¹, Christophe VANDIER² et Mustapha SI-TAHAR¹.

¹Centre d'étude des pathologies respiratoires, Inserm U1100/EA6305, Tours, F-37032 France ; Université François Rabelais, Tours, Tours, F-37032 France, ²Inserm U1069, Tours, F-37032 France ; Université François Rabelais, Tours, F-37032 France

Au cours de pathologies respiratoires comme la mucoviscidose ou la BPCO, le déclenchement de la réponse inflammatoire peut provoquer des lésions tissulaires irréversibles, parfois fatales. Plusieurs travaux ont montré que la signalisation calcique intervient dans la mise en place de cette réponse inflammatoire. La concentration calcique intracellulaire est par ailleurs régulée par divers canaux présents au niveau de la surface cellulaire. Parmi ces canaux, le « Transient Receptor Potential Vanilloid » (TRPV4) pourrait contribuer à l'inflammation au niveau intestinal. Sur la base de ces informations, notre projet a pour objectif de déterminer l'impact de la signalisation dépendante du canal calcique TRPV4 sur l'inflammation respiratoire. *In vitro*, l'étude de l'expression de TRPV4 dans plusieurs lignées et cellules épithéliales pulmonaires primaires humaines révèle une expression constitutive de TRPV4. La stimulation des cellules par le 4αPDD, un agoniste spécifique du TRPV4 dérivé de l'acide arachidonique, induit une entrée de calcium et une sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. *In vivo*, l'administration intranasale de 4αPDD à des souris conduit à une augmentation de la concentration en médiateurs inflammatoires dans les fluides broncho-alvéolaires ainsi qu'à un recrutement de polynucléaires neutrophiles dans les poumons. Ces travaux démontrent un rôle du TRPV4 dans la réponse inflammatoire au niveau pulmonaire. Ce canal calcique constitue donc une cible thérapeutique potentielle pour le traitement des pathologies respiratoires présentant une composante inflammatoire.

Thème : Inflammation pulmonaire

Un système toxine/antitoxine impliqué dans la stabilité de SGI1 ?

Kévin Huguet

Doctorant INRA ISP (PGBA)

L'îlot génomique SGI1 (Salmonella Genomic Island 1) identifié chez *Salmonella enterica* et *Proteus mirabilis* est responsable de multiples résistances aux antibiotiques, incluant des résistances à des molécules récentes utilisées comme thérapeutique de premier choix. Depuis sa première identification au Royaume-Uni dans les années 80, SGI1 a connu un succès épidémique dans le monde entier.

Récemment, Kiss et al. (2012) ont démontré que SGI1 était extrêmement stable au cours du temps et des générations bactériennes en absence de toute pression antibiotique. Une des raisons possibles de cette stabilité serait la présence sur l'îlot d'un système capable de stabiliser cet élément génétique mobile au sein du génome.

Par étude d'homologie de séquences protéiques, l'opéron putatif S026-S025 de SGI1 présente une forte similitude avec le système Toxine-Antitoxine (TA) du plasmide Ti d'*Agrobacterium tumefaciens*, décrit par Yamamoto et al. (2009) comme impliqué dans la forte stabilité et incompatibilité de ces plasmides chez *Agrobacterium*. De manière générale, les systèmes TA représentent des systèmes d'addiction (gènes égoïstes) assurant leur propre persistance et de fait celle de l'élément génétique qui les porte.

Pour démontrer que l'opéron S026-S025 code pour un système toxine antitoxine, la méthodologie envisagée passe par des clonages indépendants de la toxine et de l'antitoxine sur différents vecteurs permettant une expression inductible de la toxine et de l'antitoxine. S'il s'avère que ces candidats soient bien un module TA, nous testerons également la capacité du système à stabiliser un réplicon instable, cela sera réalisé à l'aide d'un plasmide à réplication thermosensible. L'analyse de la persistance de l'îlot génomique SGI1 dépourvu de son système TA sera également étudiée en fonction de diverses pressions de sélection antibiotique (ou non).

Les premiers résultats tendent à confirmer que S025 code pour une toxine et que S026 code pour l'antitoxine correspondante puisque aucuns clones pBADS025 n'ont jamais été obtenus sauf dans une condition particulière, celle où pKKS026 était déjà présent dans les cellules.

Thème : Microbiologie, Biologie moléculaire, résistance aux antibiotiques

Mots-clés : SGI1, système toxine-antitoxine, post segregational killing, stabilité génomique

Modifications des cellules dendritiques humaines et des lymphocytes T CD8 par des lymphocytes T régulateurs et par des lymphocytes T effecteurs.

I KAZMA, R LEMOINE, Y LEBRACHU, F VELGE-ROUSSEL, C BARON

E.A.4245 'Cellules dendritiques, Immunomodulation et Greffes' ; Université François-Rabelais de Tours, 10 Boulevard Tonnellé, 37032 Tours,

Introduction : Les cellules dendritiques (DC) matures présentent les antigènes aux lymphocytes T effecteurs (LT) et initient la réponse immunitaire effectrice. Il existe aussi des DC tolérogènes capables d'induire des LT régulateurs (Treg) qui inhibent les réponses des LT effecteurs (Teff). Cependant, les effets des Treg sur les DC et sur LT CD8⁺ cytotoxiques ne sont pas bien connus. Dans notre laboratoire, nous avons démontré précédemment que des DC humaines traitées par l'acide mycophénolique (MPA) induisent des Lymphocytes T CD4⁺ régulateurs (iTreg) allospécifiques. Dans cette étude, nous avons analysé les effets des iTreg et des Teff sur le phénotype et la fonction des DC humaines allogéniques et sur les LT CD8⁺ cytotoxiques.

Matériels et méthodes : les DC ont été dérivées de monocytes humains, leur maturation a été induite par du TNF- α en présence ou non de MPA (DC-MPA ou DC-TNF respectivement). Les LT CD4⁺ régulateurs (iTreg) et les LT CD4⁺ effecteurs (Teff) sont obtenus respectivement par culture prolongée avec des DC-MPA ou des DC-TNF allogéniques. A la fin de la culture, les iTreg et les Teff sont sélectionnés par billes magnétiques. Ils sont ensuite remis en culture soit 1) avec des DCm allogéniques soit 2) avec un mélange de DCm allogéniques et de LT CD8⁺. Nous avons ensuite analysé les modifications de l'expression des marqueurs d'activation sur les DC et les LT CD8⁺, la sécrétion des cytokines par ces cellules et la capacité des LT CD8⁺ à lyser des cibles spécifiques après leur préconditionnement avec des iTreg et des Teff.

Résultats : Nos résultats ont montré que les iTreg convertissent des DC matures immunogènes en DC non-immunogène caractérisées par une production importante d'IL-10 et de faibles niveaux d'IL-12 et d'IFN- γ , une perte d'expression de certains marqueurs de surfaces notamment CD25 et CD83. Cette conversion est spécifique de l'antigène reconnu par les iTreg. De plus, les iTreg suppriment la prolifération des LT CD8⁺, induisent une diminution de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires et une baisse de l'expression des molécules cytotoxiques par ces cellules, les iTreg altèrent également la capacité des LT CD8⁺ à lyser des cibles spécifiques. D'une manière surprenante, le blocage de CTLA-4 lors de l'interaction des DCm avec les Teff diminue la synthèse d'IL-12 et augmente celle d'IL-6, suggérant un rôle nouveau de CTLA4 dans l'augmentation de l'IL12 et donc dans une possible orientation de la réponse immunitaire vers Th1 et l'inhibition de TH17.

Conclusion : Nos résultats montrent que les iTregs humains suppriment les propriétés cytotoxiques des LT CD8⁺ ainsi que les capacités allostimalatrices des DC matures de façon allospécifiques. Enfin de façon importante nous rapportons pour la première fois chez l'homme un rôle de CTLA-4 exprimé par les LT CD4⁺ préactivés dans la production d'IL12 par la DC humaine et donc dans l'orientation de la réponse immunitaire.

Ciblage des cellules dendritiques et pilotage de ses propriétés immuno-modulatrices contre la toxoplasmose

Z. LAKHRIF, M-N. MEVELEC, A. DI TOMMASO, M. JUSTE, I. DIMIER-POISSON, N. AUBREY

UMR 1282 Université- INRA, ISP. Laboratoire d'Immunologie Parasitaire, Vaccinologie et Biothérapie Anti-infectieuse, UFR pharmacie, Tours.

La toxoplasmose est une anthroponose causée par un parasite intracellulaire obligatoire ; le *T. gondii*. La maladie est asymptomatique. Toutefois, chez les femmes enceintes ayant été infectées pendant leur grossesse, elle peut causer des avortements ou des malformations des fœtus. La réactivation peut être aussi mortelle chez les patients immunodéprimés. Afin de prévenir de l'infection, une nouvelle stratégie vaccinale a été développée. Elle repose sur l'amplification de la réponse immunitaire spécifique anti-toxoplasmique par le ciblage d'un antigène parasite aux cellules dendritiques (CD). L'antigène majoritaire de *T. gondii* est la protéine de surface SAG1, qui, sous forme mature, est constitué de deux domaines D1 et D2, le domaine D1 étant le plus exposé.

Ainsi, différents protéines ont été développés en fusionnant un fragment d'anticorps de type scFv dirigé contre le récepteur d'endocytose DEC-205 des CD, et la protéine SAG1 (SA2) ou le domaine D1 (SA1). Les constructions de ces protéines, ainsi que plusieurs contrôles (antigène seul ou scFv irrelevant-antigène) ont été réalisées en vue d'une vaccination génique ou protéique. La protéine SA1, en autres, est produites en système eucaryote et purifiées par chromatographie d'affinité sur colonne Ni-NTA. Sa « double » fonctionnalité a été confirmée. D'une part, par immunofluorescence, il a été montré que le scFv reconnaît les récepteurs présents sur les SRDC. D'autre part, le domaine D1 conserve sa conformation, étant toujours reconnu par un anticorps anti-SAG1.

L'effet immuno-prophylactique des différentes protéines de fusion doit être encore validé. Des études *in vitro* devraient permettre de mesurer la capacité à provoquer la maturation des DCs, le pourcentage d'internalisation des protéines de fusion et la stimulation des lymphocytes à produire l'IFN- γ . Cette stratégie doit être ensuite valorisée *in vivo* par l'étude de la protection, ainsi que de la réponse immunitaire anti-toxoplasmique.

Thème : Stratégie vaccinale contre la toxoplasmose.

Mots clés : Réponse Immunitaire, Toxoplasmose (SAG1), Cellules dendritiques (DEC 205), ciblage, scFv.

Evaluation des propriétés anti-toxoplasmiques d'un composé à visée inhibitrice de CDPK1

Espérance Moine, Isabelle Dimier-Poisson, Cécile Enguehard-Gueiffier, Mélanie Pouvreau, Caroline Denevault-Sabourin, Françoise Debierre-Grockiego

UMR université-INRA 1282 Infectiologie et Santé Publique (équipes 9 et 10)

La toxoplasmose, due au parasite apicomplexe *Toxoplasma gondii*, a une forte incidence en médecine vétérinaire et en santé humaine. Le traitement de référence de la toxoplasmose est une association pyriméthamine-sulfamide. Ces molécules ne sont pas spécifiques et présentent une toxicité importante. Il est donc indispensable de trouver des alternatives thérapeutiques. Dans ce contexte, l'enzyme CDPK1 (calcium-dependent protein kinase 1), absente chez les mammifères, représente une cible thérapeutique de choix. Contrairement à la majorité des kinases, le site ATP de CDPK1 se caractérise par un « gatekeeper » (résidu contraignant l'accès à une large poche hydrophobe adjacente au site ATP) de petite taille (résidu glycine), permettant le développement d'inhibiteurs volumineux hautement sélectifs capables d'occuper cette poche. Notre objectif est donc de concevoir des inhibiteurs sélectifs de cette kinase et capables d'agir efficacement *in vivo*.

Les travaux préliminaires ont permis d'identifier une imidazo[1,2-*b*]pyridazine chef de file qui inhibe la prolifération *in vitro* de *T. gondii* à des concentrations de l'ordre du nanomolaire, présente un bon index thérapeutique, et se fixe au site ATP de la CDPK1 de *T. gondii* (études de docking). L'ajout de groupements plus volumineux permettrait d'améliorer sa sélectivité vis-à-vis de CDPK1.

Les pharmacomodulations réalisées dans ce sens ont permis d'identifier l'inhibiteur Mél-483, qui diminue de 50 % le nombre de parasites à une concentration de 47 nM (CI₅₀), ce qui est plus efficace que le chef de file sélectionné. Les tests de cytotoxicité *in vitro* ont montré que des concentrations inférieures à 10 µM ne sont pas toxiques pour les fibroblastes humains, cellules utilisées pour la culture du parasite. La toxicité de Mél-483 a ensuite été testée *in vivo* chez des souris non consanguines (Swiss OF1) à 10 mg/kg et 35 mg/kg. Aucune modification de poids et de comportement n'a été observée par rapport aux souris non traitées. De même, les valeurs de marqueurs rénaux et hépatiques ne montrent pas de fortes variations. L'efficacité de Mél-483 aux mêmes doses sera testée *in vivo* sur souris infectée par *T. gondii*.

Thème : Thérapie anti-parasitaire

Mots clés : Toxoplasmose, *Toxoplasma gondii*, imidazo[1,2-*b*]pyridazine, CDPK1

L'opéron métabolique *frz*-like chez *Streptococcus agalactiae* : lien entre le métabolisme des sucres et virulence.

Kévin Patron, Emilie Camiade, Laurent Mereghetti

UMR 1282, Equipe 5 « Bactéries et risque materno-fœtal »

Streptococcus agalactiae est une bactérie commensale présente au niveau tube digestif et du tractus génital de diverses espèces animales, dont l'espèce humaine. Elle représente la première cause d'infections néonatales, et est aussi un pathogène émergent chez l'adulte immunodéprimé. L'implication de *S. agalactiae* dans une large variété de pathologies chez de nombreux hôtes souligne sa capacité d'adaptation à diverses conditions environnementales.

Une étude récente réalisée par Rouquet *et al.* en 2009 a montré que l'opéron métabolique *frz* constitue un système senseur permettant à *Escherichia coli* d'activer certains de ses gènes d'adaptation et de virulence en fonction de son environnement. Nous avons mis en évidence qu'un opéron homologue, nommé *frz*-like, est présent dans le génome de certaines souches de *S. agalactiae*. Cet opéron est composé de 7 gènes qui codent un activateur transcriptionnel de la famille MtlR, un transporteur PTS, et trois enzymes qui sont potentiellement impliquées dans la voie non oxydative des pentoses phosphates.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une étude de la prévalence de cet opéron *frz* au sein de 249 souches de *S. agalactiae* d'origines humaine (gastrique, hémoculture, LCR, vaginal) et animale (bovine) représentatives de la diversité génétique de l'espèce. Nous avons montré que la prévalence de *frz*-like pour les souches d'origines humaine et animale est respectivement de 32% et 22%. En ce qui concerne la prévalence de *frz* en fonction de l'origine des souches chez l'homme, on observe que cet opéron est majoritairement présent au sein des souches vaginales (43%) ou obtenues d'hémocultures (43%), alors qu'il est faiblement représenté chez les souches provenant de LCR (17%). Cette étude nous a permis de conclure que le locus *frz* est absent des souches invasives causant des méningites. Afin de déterminer le rôle de cet opéron chez *S. agalactiae*, nous avons construit des mutants inactivés pour les différents gènes composant l'opéron *frz* chez *S. agalactiae* A909. Ces mutants nous permettront (i) de comparer l'expression de facteurs de virulence dans différentes conditions et (ii) de définir quels sont les sucres utilisés soit par le système PTS, soit par les enzymes de l'opéron *frz*.

Thème : Microbiologie

Mots-clés : *Streptococcus agalactiae*, Métabolisme carboné, PTS.

Deciphering why *Salmonella* Gallinarum is *in vitro* less invasive than *Salmonella* Enteritidis

Aurore ROSSIGNOL¹, Sylvie ROCHE¹, Isabelle VIRLOGEUX-PAYANT¹, Olivier GREPINET¹, Louise BAUGE⁴, Jérôme TROTTEREAU¹, Agnès WIEDEMANN¹, Valentin LOUX², Hélène CHIAPELLO², Jennifer FREDLUND³, Jost ENNINGA³, and Philippe VELGE¹

¹INRA, UMR1282 ISP, 37380 Nouzilly, ²INRA, Unité MIG, 78352 Jouy-en-Josas, ³Institut Pasteur, Groupe « Dynamique des interactions hôte-pathogène », 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris, ⁴UCO Bretagne Nord, Campus de la Tour d'Auvergne, 37 rue du Maréchal Foch, 22200 Guingamp

Salmonella Gallinarum (SG) and *Salmonella* Enteritidis (SE) are responsible for different infections in poultry in spite of a high genetic similarity. *In vitro* behavior is also different since epithelial cell invasion assays suggest SG is less invasive than SE. The main *Salmonella* host invasion factor is the Type Three Secretion System 1 (T3SS-1), an apparatus similar to a syringe delivering bacterial effectors directly into the host cell which trigger a strong actin reorganization leading to bacterial uptake. The aim of this study is to determine why SG is *in vitro* less invasive than SE. First we have shown that all SG strains tested were less invasive than all SE strains tested regardless of the epithelial cell origin. We have also shown that SG low invasion phenotype was not explained by a dysfunctional T3SS-1 apparatus since SG was able to secrete and to translocate effectors into the host cell. However, quantification of actin foci in cells transfected actin-GFP in order to visualize actin reorganization showed that SG was associated with at least 3 times less actin foci than SE during cell infection, suggesting that T3SS-1 is involved in the low invasion phenotype. Furthermore, we have also shown that invasion abilities were delayed for SG compared to SE, and this delay was related to T3SS-1. We are currently studying if mutations in genes encoding T3SS-1 effectors could explain the delayed invasion phenotype of SG compared to SE.

Thème: *Salmonella* Gallinarum invasion deficiency

Keywords: *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Enteritidis, invasion, T3SS-1

ACCES A UNE NOUVELLE FAMILLE D'ANTICOCCIDIENS

Laurence Silpa^{a,b}, Julien Pétrignet^a, Fabien Brossier^b, Mohamed Abarbri^a

a : Laboratoire Recherche et Innovation en Chimie Médicinale, UMR 1282, UFR Sciences et Techniques, Tours

b : Laboratoire Pathogénèse des Coccidioses, UMR 1282, INRA, Nouzilly

Les coccidioses représentent le premier fléau parasitaire de l'aviculture. Leur impact économique est mondial et estimé à deux milliards de dollars¹. Ce sont des maladies infectieuses provoquées par des parasites à développement intracellulaire obligatoire appelés *Eimeria*. Le genre *Eimeria* compte sept espèces qui envahissent spécifiquement les cellules épithéliales des intestins de poulet. L'espèce de choix étudiée dans notre laboratoire est *Eimeria tenella*. Il s'agit de l'espèce la plus pathogène conduisant à la mort de l'animal².

La prophylaxie repose sur la vaccination et sur l'utilisation de molécules à effets anticoccidiens. Cependant, le coût élevé des vaccins et l'apparition de résistances aux antiparasitaires soulignent la nécessité de trouver des moyens de lutte alternatifs.

Afin de réaliser cet objectif, une collaboration entre les deux laboratoires a été mise en place en utilisant la capacité de composés chimiques à inhiber l'invasion et/ou le développement des parasites au sein de la cellule hôte. Notre stratégie repose sur deux axes de recherches :

- Evaluer le pouvoir inhibiteur des molécules de la chimiothèque du laboratoire
- Synthétiser des analogues des composés actifs pour les rendre plus affins vis-à-vis de leur cible.

Les premiers screening nous ont permis de mettre en évidence des composés pouvant inhiber l'invasion ou le développement des parasites *Eimeria tenella*. La pharmacomodulation de ces composés est en cours.

Ainsi, une approche pluridisciplinaire faisant appel à la biologie et à la chimie est utilisée pour concevoir une nouvelle famille potentielle d'agents anticoccidiens.

Projet Kinochemometrics : Identification rapide d'inhibiteurs efficaces et sélectifs de protéines kinases

Nicolas Bosc¹, Christophe Meyer², Pascal Bonnet¹

¹ Univ. Orléans, CNRS, ICOA, UMR 7311, F-45067 Orléans, France

² Janssen-Cilag, Centre de Recherche Pharma, BP615 - Chaussée du Vexin, 27106 Val-de-Reuil, France

La famille des kinases qui compte 518 protéines chez l'Homme est principalement impliquée dans la phosphorylation de protéines cibles. La dérégulation d'une protéine kinase, due à une surexpression de celle-ci ou à une mutation de sa séquence, peut avoir des conséquences graves pour la santé. Ces protéines kinases sont donc des cibles thérapeutiques importantes et font l'objet d'une recherche d'inhibiteurs très intense.

Le domaine catalytique fixant l'ATP étant très conservé dans cette famille de protéines, un inhibiteur de l'une d'elles peut potentiellement interagir avec d'autres kinases. La recherche s'attellant de plus en plus à synthétiser des inhibiteurs sélectifs, nous développons un modèle protéo-chimiométrique spécialisé dans la prédiction des activités et des profils de sélectivité de telles molécules. Bien que des approches similaires aient déjà été testées, nous proposons ici de travailler sur un grand nombre de paires kinases-ligands publiques et privées. L'autre aspect novateur de notre approche est dans le développement et l'utilisation d'un nouveau descripteur d'acides aminés basé sur des triplets devant permettre de représenter les sites actifs des protéines kinases et de les comparer entre eux. Celui-ci doit aussi permettre de décrire de manière plus détaillée les interactions protéine/ligand et d'affiner la prédiction poly-pharmacologique.

Régulation hormonale de la biosynthèse des lignanes chez le lin cultivé

Cyrielle Corbin¹, Cédric Decourtil¹, Ivan Mateljak¹, Christelle Dutilleul², Nathalie Giglioli Guivarc'h², Daniel Auguin¹, Eric Lainé¹, Christophe Hano¹

¹ Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC- EA 1207), Université d'Orléans

² Laboratoire de Biotechnologies et de Biologie Végétale (BBV- EA 2106), Université De Tours

Les graines de lin constituent la plus riche source en lignanes, des composés naturels présentant un intérêt en santé humaine ; en particulier le secoisolariciresinol (SECO) dont les propriétés phyto-oestrogéniques préventives de certains cancers débouchent sur des applications nutraceutiques.

Chez le lin, la production naturelle de ces molécules débute par une dimérisation d'alcool coniféryliques par une protéine dirigeante couplée à une oxydase, formant ainsi le pinorésinol qui est ensuite converti en SECO grâce à une enzyme bifonctionnelle nommée PLR (Pinorésinol Laricirésinol Réductase) puis stocké dans le tégument des graines de lin. La régulation de la voie de biosynthèse de ces molécules chez le lin cultivé (*Linum usitatissimum*) est cependant peu connue et constitue un véritable enjeu dans l'optique de l'amélioration de leur production.

Pour identifier les acteurs de cette régulation, les effets biologiques sont étudiés à plusieurs niveaux. L'expression des gènes est suivie par PCR et l'accumulation des métabolites par HPLC.

Cette voie de biosynthèse est régulée à la fois par des stress biotiques (*Fusarium oxysporum*) et abiotiques médiés par l'ABA (Acide Abscissique, une phytohormone importante). En effet il a été démontré que l'ABA régule l'expression du gène *LuPLR1* aboutissant à une augmentation de l'accumulation de SECO dans des suspensions cellulaires et dans des graines de lin. La régulation par l'ABA requiert de nombreux acteurs : des facteurs de transcription (comme LuABI3), des enzymes de modification post-traductionnelle (farnésyltransférase), des messagers secondaires tels que le calcium...

Thème : Physiologie végétale du métabolisme secondaire.

Mots-clés : secoisolariciresinol, *Linum usitatissimum*, facteur de transcription, ABA

Interaction du récepteur 5-HT₆ de la sérotonine avec la neurofibromine : études moléculaire et cellulaire

Wissem Deraredj, Laetitia Cobret, Fabienne Godin, Fahima Madouri, Hélène Bénédicti et Séverine Morisset

La Neurofibromatose de type 1 est une maladie génétique humaine due à la mutation d'un gène suppresseur de tumeur, le gène *NF1*, qui code pour la neurofibromine (Nf1). Cette maladie se manifeste principalement par l'apparition de tumeurs au niveau du système nerveux et par des problèmes de mémorisation et d'apprentissage. Nf1 a une expression ubiquitaire, mais elle est plus fortement exprimée dans les cellules du système nerveux. Trois fonctions de Nf1 ont été décrites : l'inactivation de la petite protéine G Ras (par une activité GTPase activating protein : GAP), la stimulation de la production de cAMP et le rôle dans l'organisation du cytosquelette d'actine. Afin de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques pour soigner la neurofibromatose de type 1, il est impératif de connaître toutes les fonctions exercées par Nf1 ainsi que les mécanismes de leur régulation. Afin d'obtenir des informations sur ces nouvelles fonctions et régulations, notre équipe recherche de nouveaux partenaires protéiques de Nf1.

Les travaux décrits ici portent sur l'étude d'un de ces partenaires, le récepteur 5-HT₆ de la sérotonine (R5-HT₆), qui appartient à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs). Dans le contexte de la neurofibromatose, ce récepteur apparaît comme un candidat particulièrement intéressant puisqu'il est spécifique du système nerveux central et qu'il est impliqué dans les processus de mémorisation et d'apprentissage. En effet, la forte affinité de plusieurs médicaments pour le R5-HT₆ pourrait être à l'origine de l'effet bénéfique de ces molécules dans le traitement des déficits cognitifs rencontrés dans plusieurs pathologies (Alzheimer, schizophrénie). L'interaction entre ce récepteur et la protéine Nf1 entière a déjà été validée par des approches biochimiques (co-immunoprécipitation). Les objectifs de ce travail sont d'étudier la régulation de cette interaction dans des conditions normales ou pathologiques (sur des modèles cellulaires et animaux de la maladie avec le gène *NF1* délété) et d'en comprendre les implications fonctionnelles par diverses approches.

Le premier objectif de notre travail a été une approche moléculaire afin d'identifier les domaines de Nf1 qui interagissent avec le récepteur. La neurofibromine étant une grosse protéine de 2839 résidus, nous avons travaillé sur différents domaines constituant cette protéine, les domaines N-terminale (acides aminés 1- 1168), GRD (GAP Related Domain ; 1168-1560), SecPH (Sec15-Pleckstrin Homology Like Domain ; acides aminés 1560-1816), HLR (Heat Like Repeat ; 1825-2428) et C-terminale (acides aminée 2428-2839). Nous avons pu déterminer par co-immunoprécipitation que les domaines GAP, SecPH et C-terminale interagissaient avec le récepteur. Afin de déterminer si ces interactions étaient directes ou non et afin de suivre l'effet de ligands du récepteur sur ces interactions, nous avons employé la technique de BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfer), qui permet de suivre des interactions protéine-protéine en temps réel sur cellules vivantes. Ainsi, nous avons pu montrer que le récepteur interagissait directement avec le domaine SecPH et C-terminale de façon constitutive, c'est-à-dire en absence de ligands et que l'ajout d'agonistes ou d'antagonistes inverses ne modifiait pas ces interactions.

Afin d'explorer le rôle fonctionnel de ces interactions, nous avons mis au point un test fonctionnel du récepteur 5-HT₆ en mesurant les taux d'AMPc intracellulaire par dosage HTRF (Homogenous Time Resolved Transfer). Après surexpression du récepteur 5-HT₆ dans des cellules Hela sous exprimant Nf1 (Hela, Nf1^{-/-}), des résultats préliminaires nous laissent penser que la perte de Nf1 diminue l'activité du récepteur comparé aux cellules contrôles (Nf1^{+/+}). Nous envisageons l'étude réciproque, à savoir d'étudier l'activité du récepteur exprimé de façon stable dans une lignée de cellules après transfection de siRNA dirigé contre Nf1.

Caractérisation d'un facteur de transcription de type RR-B et de son implication dans une voie de signalisation de type « osmosensing » chez le Peuplier

I. DJEGHDIR1 – L. BERTHEAU1 – F. CHEFDOR1 – G. GLEVAREC2 – V. COURDAVAULT2 – F. HERICOURT1 – C. DEPIERREUX1 – D. MORABITO1 – F. BRIGNOLAS1 – A. OUDIN2 – S. CARPIN1

1Université d'Orléans, UFR-Faculté des Sciences, UPRES EA 1207, Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC), BP 6759, F-45067 Orléans, France

2Université François-Rabelais de Tours, EA 2106, Biomolécules et Biotechnologies Végétales, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France.

Les changements climatiques globaux observés actuellement induisent des périodes de sécheresse accrues, impliquant une extension des zones de populiculture hors zone alluviale. Une réponse adaptée à ces variations de conditions nécessite la présence de mécanismes permettant la perception et la transduction du signal de contrainte hydrique. Un de ces mécanismes, le phosphorelais multiple, étudié depuis peu chez *Arabidopsis*, est composé de trois partenaires : un récepteur ou Histidine-Aspartate Kinase (HK), des Histidine Phosphotransfert protein (HPT) et des Régulateurs de Réponses (RR) dont les RR-B qui sont des facteurs de transcription.

Dans le cas de la perception de la sécheresse chez *Arabidopsis*, un récepteur a été identifié, AHK1. Parmi les 5 HPT d'*Arabidopsis*, seule AHP2 semble interagir avec AHK1. Chez le peuplier, un osmosenseur a été isolé, HK1, et trois HPT parmi 10 interagissent avec ce récepteur. Des tests d'interaction entre ces 3 HPT et 8 RR-B montrent que 5 d'entre eux pourraient être des partenaires de la voie osmosensing. Nous avons cherché à définir le rôle du RR13 et son implication dans la voie osmosensing. Afin de déterminer sa fonction, nous avons d'abord montré sa capacité de fixation à l'ADN via son domaine GARP par la technique de gel retard puis sa capacité à activer la transcription d'un gène de RR-A, cible de ces facteurs de transcription. L'étude de la régulation du gène codant ce RR lors d'une contrainte hydrique est en cours.

A ce jour, nous avons montré la fonctionnalité du RR13 mais son implication dans la voie osmosensing reste à démontrer.

Thème : Signalisation

Mots clés : phosphorelais multiple, osmosensing, *Populus*, Régulateurs de Réponse, facteurs de transcription.

Étude des propriétés de moteur moléculaire du facteur de transcription Rho de *Mycobacterium tuberculosis*.

D'Heygere François^{1, 2}, Schwartz Annie² & Boudvillain Marc²

¹Ecole doctorale Santé, Science Biologique et Chimie du Vivant ; Université d'Orléans

²Centre de Biophysique Moléculaire, avenue de la recherche scientifique 45000 Orléans

Chez les bactéries, le facteur Rho est impliqué dans l'une des deux voies majeures de la terminaison de la transcription. Chez *Escherichia coli*, Rho (ecRho) est capable de se déplacer le long du transcrit ARN via l'hydrolyse de NTP, afin de rattraper l'ARN-polymérase et de provoquer la dissociation du complexe d'élongation de la transcription. Durant ce processus, ecRho peut aussi déplacer des obstacles placés le long du transcrit comme les structures "R-loop" (formées lors de l'invasion de la matrice ADN par le transcrit naissant).

Toutefois il n'est pas certain que ce mécanisme soit conservé à travers tout le royaume bactérien. Récemment, une étude a proposé que le facteur Rho de *Mycobacterium tuberculosis* (mtbRho) peut entraîner la dissociation du complexe d'élongation en absence d'hydrolyse de NTP et qu'il agirait par un mécanisme différent. Pour mieux comprendre ce nouveau mécanisme potentiel, nous avons étudié la capacité de mtbRho à hydrolyser les NTP, et à dérouler des duplexes ARN:ADN. Nos résultats suggèrent que mtbRho est une hélicase peu processive, mais qui dépend de l'hydrolyse de NTP. Durant ce congrès nous discuterons nos résultats en relation avec les modèles courants de fonctionnement des moteurs moléculaires et de terminaison de la transcription Rho dépendante.

Thème : ARN et hélicases

Mots-clés : ARN, hélicase, transcription, *Mycobacterium tuberculosis*

Délivrance de siRNA dans les métastases pulmonaires par des lipopolyplexes ciblés.

Gosselin MP, Gonçalves C., Malard V., Ezzine S., Baril P., Pichon C. et Midoux P.
Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301 et Université d'Orléans

Les siRNA sont des petits ARN double brins, qui suscitent un grand intérêt dans le domaine thérapeutique de par leur faculté à inhiber spécifiquement des gènes cibles, notamment des gènes impliqués dans le développement des cellules cancéreuses. Ces molécules nécessitent une vectorisation pour faciliter leur délivrance dans les cellules cibles. Pour cela, nous utilisons des lipopolyplexes (LPD) capables de cibler les cellules 4T1, un modèle murin de tumeur et de métastases de cancer du sein. Les LPD sont des complexes ternaires composés de liposomes cationiques, d'un polymère cationique et d'un acide nucléique (ici siRNA) (Perche F, Midoux P. *et al.* 2011, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine). Les liposomes que nous préparons sont constitués de lipophosphoramidates imidazolylés, des lipides faiblement toxiques possédant une structure bioinspirée des phospholipides membranaires. Le ciblage des LPD est réalisé en utilisant deux peptides : le peptide uPA spécifique des cellules 4T1 et le peptide RGDc spécifique des intégrines $\alpha_v\beta_3$ exprimées dans les cellules cancéreuses et les microvaisseaux tumoraux. Ces peptides sont fixés sur les liposomes via du DSPE-PEG2000-Maléimide. Le polymère est la PEI partiellement histidinylée (Bertrand, E., Guégan, P. *et al.*, 2011, Chem. Commun). Ces deux molécules, lipides et polymères sont riches en histidine ou imidazole et ont une forte capacité à déstabiliser les vésicules d'endocytose pour permettre la délivrance des siRNA dans le cytosol des cellules où se trouvent les cibles des siRNA. L'efficacité d'endocytose par les cellules 4T1, des liposomes ciblés mesurée par cytométrie en flux, montre que ces liposomes ont une efficacité d'endocytose six fois plus importante que les liposomes non ciblés. En parallèle, l'efficacité biologique des LPD a été évaluée *in vitro* avec des siRNA anti-luciférase dans des cellules 4T1-Luc exprimant la luciférase. Une inhibition importante (90%) de l'expression de la luciférase est obtenue avec 50 nM de siRNA. La délivrance des LPD chez le petit animal dans les métastases pulmonaires expérimentales est réalisée par injection intratrachéale. La biodistribution des LPD et des siRNA est analysée par fluorescence *in vivo* en utilisant les liposomes, le polymère et les siRNA marqués avec des fluorophores qui émettent dans le proche infra-rouge. Nous montrons que les différents composants des LPD (liposome et polymère) sont localisés dans les poumons jusqu'à au moins 24h post-injection. L'efficacité de délivrance *in vivo* de siRNA est recherchée dans des métastases pulmonaires 4T1-Luc en utilisant des siRNA anti-luciférase vectorisés dans les LPD.

Thème : Thérapie génique des métastases pulmonaires du cancer du sein

Mots clés : lipopolyplexes, siRNA, métastases pulmonaires, cancer du sein

Thioglycoligases : catalyseurs innovants de thioglycosides

Laure Guillotin, Pierre Lafite, Richard Daniellou

Univ. Orléans, CNRS, ICOA, UMR 7311, rue de Chartres F-45067 Orléans, France

La reconnaissance de l'implication des sucres dans de nombreux processus biologiques cruciaux ainsi que la diversité structurale de ces biomolécules a favorisé le développement d'enzymes recombinantes permettant leur synthèse. Les thioglycoligases font parties de ces biocatalyseurs innovants permettant la création d'une liaison de type S-glycosidique (Schéma 1).¹

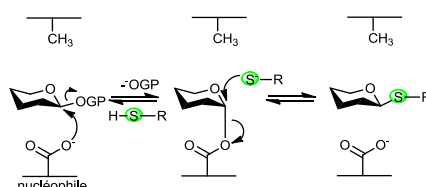


Schéma 1 : Mécanisme des thioglycoligases. GP = groupe partant.

L'objectif du projet est de générer une banque de biocatalyseurs efficaces pour la synthèse d'analogues de sucres non-usuels (L-fucose, D-rhamnose, etc...)² et d'évaluer biologiquement leurs activités. Les premiers travaux de caractérisation réalisés sur l'enzyme BT2192 (famille GH29, classification CAZy³) nous ont permis de remettre en question l'activité α -L-fucosidase supposée en faveur d'une activité β -D-galactosidase.

^[1] S. G. Withers et al, *Angew. Chem. Int. Ed*, 2003, 3, 42 ; R. Daniellou et al, *Org Biomol Chem*, 2011, 9, 8371 ;

^[2] P. Lafite, R. Daniellou, *Nat. Prod.Rep.*, 2012, 29, 729 ;

^[3] B. Henrissat et al, *Nucleic Acids Res.*, 2009, 37 :D233-237.

Thème : Enzymologie moléculaire

Mots-clés : Thioglycoligase, α -L-fucosidase, glycoside hydrolase family 29

Structure génétique et potentiel dispersif de *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera, Cerambycidae), vecteur du nématode du pin (*Bursaphelenchus xylophilus*) en Europe.

Julien HARAN, Christelle ROBINET, Alain ROQUES, Géraldine ROUX

INRA Orléans, URZF- 2163 Avenue de la Pomme de Pin 45160 ARDON, France

Le nématode du Pin (*Bursaphelenchus xylophilus*) est un ravageur des conifères d'origine Nord Américaine. Il est responsable de la « Pine Wilt Disease », un syndrome de dessèchement des pins causant des dommages considérables aux forêts attaquées.

Le nématode du pin a été détecté pour la première fois en Europe en 1999 dans la région de Sétubal au Portugal. Malgré les mesures de confinement, cette espèce s'est rapidement étendue à l'ensemble du pays, et a récemment été détectée en Espagne. Les forêts européennes, contenant une part significative de pins, sont exposées à un fort risque d'expansion de ce ravageur.

Monochamus galloprovincialis est le vecteur du nématode du pin en Europe. L'objectif de ce projet est d'étudier la structure génétique de cette espèce. Nous utilisons des marqueurs microsatellites polymorphes afin d'intercepter la variation intraspécifique de *M. galloprovincialis* à plusieurs échelles géographiques. Ces données nous permettront d'évaluer l'effet du paysage (taux de boisement, reliefs...) sur le potentiel dispersif de cette espèce. Les informations ainsi recueillies seront une base pour l'élaboration d'un modèle de dispersion du nématode du pin en Europe.

Mots-clés : invasions biologiques, *Pinus ssp.*, insecte vecteur.

Perturbations neuroblastiques induites par une exposition périnatale à un herbicide.

Ameziane HERZINE¹, Anthony LAUGERAY¹, Olivier RICHARD¹, Céline MONTECOT-DUBOURG¹, Stéphane MORTAUD¹

1: INEM-UMR7355, CNRS-Université d'Orléans.

Dans le cadre d'une étude dans le domaine de neurotoxicologie, nos travaux de recherches se focalisent sur l'étude des conséquences à long terme d'une exposition périnatale à des agents environnementaux toxiques tels que les pesticides. Notre approche pluridisciplinaire (physiologie intégrée, biologie cellulaire et moléculaire, biochimie, transcriptomique, imagerie et comportements) a déjà permis de démontrer que des expositions précoces à faibles doses (inférieures à la NOAEL) conduisent à des altérations tissulaire du système nerveux central et à des troubles du comportement chez la souris.

L'étude transcriptomique a, par ailleurs, montré des modifications significatives de l'expression de nombreux gènes dans les cerveaux des souris exposées indirectement au Glufosinate d'ammonium (GLA - herbicide organophosphoré). Les protéines codées par ces gènes sont impliquées dans divers systèmes physiologiques et dans des voies impliquées dans la régulation de la migration des neuroblastes, cellules précurseur des neurones. Nous avons donc cherché à mettre en évidence les effets du GLA lors d'une exposition indirecte et à de très faibles doses pendant la période périnatale sur un ensemble de paramètres de la migration des neuroblastes. L'ensemble des résultats obtenus suggère fortement que l'exposition précoce à de très faibles doses de GLA durant les premiers stades du neuro-développement a un effet délétère et que les altérations comportementales observées précédemment pourraient être associées à ces perturbations cellulaires.

Thème : Neurotoxicologie.

Mots-clés : Glufosinate d'ammonium, Pesticide, migration neuroblastique, neuro-développement.

Etude du mécanisme d'échange de chaînes des dimères de la protéine HU par des méthodes biophysiques et biochimiques

Rémy LE MEUR, David Ginguene, Norbert Garnier, Martine Cadène, Karine Loth, Céline Landon & Bertrand Castaing

CNRS, Centre Biophysique Moléculaire, Rue Charles Sadron, 45071 ORLEANS, France

HU est une protéine de type histone majeure du nucléoïde bactérien. Très abondante (~30000 protéines par bactérie), cette protéine dimérique de 19kD est impliquée dans de nombreuses fonctions biologiques essentielles telles que la compaction du chromosome bactérien, la transcription, la réplication et la réparation de l'ADN.

Chez la plupart des eubactéries, HU est codée par un seul gène qui donne lieu à un unique homodimère. Cependant, chez les entérobactéries comme *E.coli*, deux gènes, *hupA* et *hupB*, codant pour les chaînes HU α et HU β respectivement, permettent la formation de trois espèces dimériques de HU : HU α_2 , HU β_2 et HU $\alpha\beta$. L'expression de ces gènes est indépendante et varie au cours de la croissance bactérienne. Chaque dimère présente un rôle biologique distinct. Par exemple, HU α_2 est nécessaire en phase exponentielle de croissance, alors que l'hétérodimère HU $\alpha\beta$ intervient en phase stationnaire. HU β_2 est essentielle dans la réponse aux chocs thermiques froids.

Les homodimères de HU sont capables d'échanger leurs chaînes entre eux pour former l'hétérodimère à température physiologique. Cependant les dimères de HU présentent une grande stabilité avec une température de fusion supérieure à 50°C pour chaque dimère d'après les expériences de micro-calorimétrie. Le mécanisme d'échange de chaîne ne peut donc pas être expliqué par une passive dissociation puis réassociation des chaînes des dimères.

Les dimères de HU sont en équilibre entre deux formes structurales distinctes dépendantes de la température : une conformation native et une conformation intermédiaire. Les expériences de RMN, dynamique moléculaire et dichroïsme circulaire montrent que cette conformation intermédiaire se déstructure dans le domaine hélice alpha exposant le cœur hydrophobe de la protéine. Par ailleurs, Les expériences d'échange de chaînes suivies par spectrométrie de masse en conditions natives montrent une forte dépendance à la température et suggèrent que la forme intermédiaire est la conformation compétente pour effectuer cet échange.

Sur la base de ces résultats nous proposons un modèle pour ce mécanisme actif d'échange de chaîne entre les dimères de HU. Cette fonction peut constituer une adaptation au niveau protéique de la bactérie à son environnement en réarrangeant les dimères de HU en fonction du contexte biologique.

Thème : Biologie Structurale

Mots clés : HU, Protéine de type Histone, Stabilité thermique, Oligomérisation, RMN

Effects Of Low Dose Sclerostin Antibody On Bone Formation In Ovariectomized Rats: Cumulative Effects Of Physical Exercise?

Mazor M., Coursier R., Pallu S., Lespessailles E., Toumi H.

EA 4708, I3MTO, CHRO - 1 rue Porte Madeleine, 45032 Orléans, France

Sclerostin antibody (Scl-Ab) represents a promising new therapeutic approach for medical conditions where the aim is to increase bone formation, such as in fracture healing and osteoporosis. **OBJECTIVE:** Investigate the effect of Scl-Ab and exercise in an aged ovariectomized female rat model of postmenopausal osteoporosis. **METHODS:** Sixty female rats aged 8 months were randomly assigned to five groups: (1) (SH): sedentary rats injected twice/week with saline; (2) (OVX): ovariectomized (OVX) rats injected twice/week with saline; (3) (OVX+E): OVX rats injected twice/week with saline and trained on a treadmill (5 times/week, one hour/day); (4) (OVX+E+S): OVX rats injected twice/week with 5 mg/kg Scl-Ab and trained on a treadmill (5 times/week, one hour/day); and (5) (OVX+S): OVX rats, injected twice/week with 5 mg/kg Scl-Ab. The duration of the program was fixed to 14 weeks. Thereafter, body composition, whole body and femoral bone mineral density (BMD) were determined by DXA. Trabecular microarchitecture was analysed at the femur diaphysis using μ CT. Serum concentration of the bone resorption marker, NTx, was determined by an ELISA assay. Finally, sclerostin gene (SOST) expression was measured by Q-PCR. Data were analysed using Shapiro Wilk, Kruskal Wallis and U Mann Whitney tests. **RESULTS:** Ovariectomized group showed a significant increase in total weight and fat mass and decrease in bone mineral density, bone volume, trabecular thickness and trabecular number. Physical exercise group showed significant decrease in fat mass, but did not have any effect on bone formation compared to OVX. Exercise combined with this dose of Scl-Ab showed dramatical increase for BMD, BV/TV and Tb. Exercise did not show additive effect on bone-related structures compared to Scl-Ab treated group. Sclerostin gene expression and NTx amount were modified in OVX+S group, but statistically not significant. **CONCLUSION:** Taken together, these preclinical results suggest that antibody-mediated inhibition of sclerostin represents a promising new therapeutic approach for the anabolic treatment of bone-related disorders, such as postmenopausal osteoporosis. Exercise combined with this dose of Scl-Ab does not have significant additive effect on bone formation.

Thème: bone biology

Mots-clés: sclerostin antibody, exercise, bone formation

Effet des niveaux de population du ravageur *Ips sexdentatus* (Col. Scolytinae) sur la composition des assemblages de ses insectes associés.

Pineau X., Auffray T., Jactel H., Lieutier F. Sallé A.

Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures

Les populations d'*Ips sexdentatus* présentent des phases de pullulations éruptives durant lesquelles elles occasionnent des mortalités massives de pins et par conséquent des pertes économiques importantes. Ces pullulations cessent spontanément au bout de quelques années, pour des raisons encore inexpliquées. Connaître les facteurs à l'origine de ces déclin serait un atout majeur pour la gestion de ce ravageur. Cet insecte est associé avec une grande diversité d'organismes et il est possible que parmi eux certaines espèces jouent un rôle important de régulateurs des effectifs. Notre étude visait à tester si les assemblages d'insectes associés à *I. sexdentatus* variaient selon les niveaux de population du ravageur, et si certaines espèces pouvaient être impliquées dans la régulation de ses effectifs. Notre étude a été initiée à la suite d'une pullulation d'*I. sexdentatus* dans le massif Aquitain. Nous avons échantillonné la faune associée à *I. sexdentatus* à l'aide de rondins pièges déposés sur des sites présentant des dégâts d'intensité variable, relevés à deux périodes différentes. Sur l'ensemble des sites, 49 espèces ont été identifiées, parmi lesquelles plusieurs étaient des compétiteurs ou des prédateurs potentiels d'*I. sexdentatus*. Des analyses multivariées ont confirmé l'existence de différences entre sites de ces assemblages d'espèces et indiqué que les densités d'attaques du ravageur sur rondins et les quantités de ravageurs émergeant des rondins-pièges étaient des facteurs pouvant expliquer la variabilité des assemblages entre sites d'études. L'abondance de certaines espèces était corrélée avec celle d'*I. sexdentatus* suggérant des interactions fortes entre espèces. La nature de ces interactions reste cependant à établir au travers de tests en laboratoire.

Thème : entomologie forestière

Mots clés : écologie des communautés, dynamique des populations, ennemis naturels.

New clues for understanding nuclear mRNA quality control in *S. cerevisiae* by the use of Rho expression system

Igor Stuparević, Christine Mosrin-Huamán, Nadège Hervouet-Coste, Mateja Remenarić and A. Rachid Rahmouni

Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, Orléans, France

Formation of mature ribonucleoprotein particles (mRNPs) competent for export and translation is coupled with nuclear surveillance mechanisms. Among the most important factors of this mRNP biogenesis are the members of THO complex, which together with export factors, form the transcription and export (TREX) complex. Aberrant mRNPs, resulting from inappropriate or ineffective maturation and assembly steps, are targeted by the quality control system causing their retention in the nucleus and degradation. Mutations for any constituent of the TREX complex, leading to impaired mRNP biogenesis, are most commonly used to study quality control. We employ an alternative assay, expression of bacterial factor Rho in yeast, leading to formation of transcripts of normal size and normal polyA tail, but nonetheless aberrant and thus recognized and degraded by the Rrp6-dependant quality control system. The use of this experimental approach has enabled us to study involvement in quality control of different cofactors associated with the nuclear degradation machinery. Along with the main exonuclease activity of Rrp6, we reveal the role of exosome cofactors Rrp47 and Mpp6, as well as TRAMP components Trf4, Trf5 and Air2, in degrading aberrant mRNPs.

Thème : nuclear quality control of transcription

Mots-clés : quality control, Rho factor, TREX, TRAMP, exosome

Critical role of TNFR1 on myeloid cells for host response to *Mycobacterium tuberculosis*

Segueni Noria^{1,2}, Bourigault Marie-Laure^{1,2}, Rose Stéphanie¹, Kollias George³, Armaka Marietta³, Ryffel Bernhard^{1,4}, Quesniaux Valérie F.J¹

(1) CNRS, UMR7355, Orleans, France.

(2) University of Orleans, Experimental and Molecular Immunology and Neurogenetics, Orleans, France.

(3) Institute of Immunology, Biomedical Sciences Research Center 'Alexander Fleming', Vari / Athens, Greece.

(4) Division of Immunology, Institute of Infectious Disease and Molecular Medicine, Health Sciences Faculty, University of Cape Town, South Africa.

Tumor Necrosis Factor alpha (TNF alpha) is critical to control Mycobacterium tuberculosis infection, through binding to its ubiquitously expressed receptor TNFR1. It was shown earlier that TNFR1 KO mice are extremely susceptible to M. tuberculosis infection. To further explore the role of TNFR1 in specific cell populations, we used a conditional gene targeting in macrophages and granulocytes by crossing TNFR1 flox mice with mice which specifically express Cre under the control of the murine M lysozyme gene (M/N_TNFR1 KO mice). We show that the TNF alpha/TNFR1 pathway is crucial in these cells during the host immune response to the infection. Indeed, M/N_TNFR1 KO mice experienced a rapid and strong body weight loss after 3-4 weeks of infection, similar to complete TNFR1 KO. Furthermore, M/N_TNFR1 KO mice displayed an increased lung inflammation with persistent splenomegaly and a higher pulmonary bacterial load at 5 weeks of infection compared to wild-type controls, similarly to the complete TNFR1 KO mice. Our data demonstrate the important impact of TNF alpha/TNFR1 pathway in macrophages and neutrophils on the immune response to M. tuberculosis infections.

Elevated-temperatures generate morphological and expressional impacts on germ cells and somatic cells of juvenile gonads during sexual maturation in a teleost fish: the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*.

Marie-Raphaëlle Almin*, Helena D'Cotta*, Elodie Pepey*, Marc Canonne*, Jean-François Baroiller*.

*CIRAD Campus International de Baillarguet, Montpellier.

In the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* elevated temperatures >32°C applied during sex differentiation affect the sex ratio resulting in a masculinisation of the gonads of genetic XX individuals. However, in several fish species (pejerrey, zebrafish, fugu) and in adult mice, high temperatures are able to induce degeneration and disappearance of germ cells leading to a partial or total sterilization. The cellular and molecular effects of these temperatures have been analysed in the present study on the gonads of sexual maturing juvenile tilapias. High temperatures of 37°C were applied for sixty days (DT60) to juvenile fish belonging to an all-male XY and a mixed-sex XX/XY progenies (110-130 day post fecundation (dpf)) and compared to 27°C. At 60 DT, end of the treatment and at 130 DT, (70 days after the end of the treatment, six fish per group were sampled and the effects on the gonads analysed. High temperatures of 37°C caused morphological changes to the gonads. At the macroscopic level, females showed a large reduction in the number of oocytes and males had translucent and reduced, filiform gonads. At 130 DT, treated fish had a lower gonado-somatic index (GSI), with an average GSI of 0,07 compared to controls GSI=1. Treated fish had undetermined sex-ratios. Germ cell apoptosis was confirmed by histology and immunohistochemistry. Real-time PCR quantification showed a down-regulation in *vasa* gene expression, a germ cell marker, at 60 DT and this persisted at 130 DT in the 37°C treated fish. The 37°C treatment also affected Sertoli cells because *amh* gene expression was down-regulated compared to controls. The aromatase gene *cyp19a1* remained low in the mixed sex progeny suggesting that the granulosa cells may have also been affected by the 37°C temperatures.

Thème: Cellular & Molecular regulation of endocrine activity

Mots-clés: 37°C elevated temperatures, germ cell apoptosis, Sertoli & granulosa cells, juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*

Geographic variations in the chemical profile of *Polistes biglumis* populations on the Alps

Bonelli M.^{1*}, Bagnères A.-G.*, Lorenzi M.C.¹

¹ University of Torino, Dept. Of Life Sciences and Systems Biology, Italy

* I.R.B.I. – UMR CNRS 7261, Université François Rabelais de Tours, France

Nestmate recognition is crucial in social insect societies and is usually mediated by chemical communication through cuticular hydrocarbons (CHC) that form a thin layer on the insect cuticles. Variations in the epicuticular chemical profile have been found related not only to colony

membership but also to seasonal cycle, colonial tasks, reproductive status and geographical origin. *Polistes biglumis* is a free-living social wasp with a palearctic distribution (Carpenter, 1996). In southern Europe it lives in mountain meadows at elevation above 1000 m and has a patchy distribution.

In this study we investigate the presence of differences in the chemical profile among population belonging to different geographic areas. We studied 9 populations spread across the Italian, Swiss and French Alps, for a total of 45 nests. We extracted CHCs from foundresses and analyzed their chemical composition using a gas-chromatograph. We found a significant correlation between chemical distances and geographical distances. Populations belonging to different geographic areas were significantly separated by a discriminant analysis (DA) on their chemical profiles. DA classification results were more accurate when the discrimination was conducted on a higher geographical scale (i.e. between western and eastern populations). Peaks that changed most among different areas of the Alps are 7-meC27, a mix of central dimeC27, 5-meC29 and a mix of central dimeC29. Interestingly, CHCs that allow the discrimination among the different geographic areas are all branched compounds, suggesting a higher diversification of methylated than linear compounds.

Influence de l'âge et du temps inter-stimulus sur l'effet de difficulté séquentielle en mémoire

Burger, Lucile ¹; Uittenhove, Kim ²; Lemaire, Patrick ²; & Taconnat, Laurence ¹

¹ 'Université François-Rabelais, Tours, France' and 'Centre de Recherches sur la cognition et l'apprentissage, CNRS'

² 'Université de Provence, Marseille, France' and 'Laboratoire de Psychologie Cognitive'

Le vieillissement entraîne un déclin de la mémoire épisodique dû en partie à des difficultés à initier des stratégies à l'encodage et/ou à la récupération. Notamment, les personnes âgées éprouvent des difficultés à mettre en place des stratégies adaptées et à alterner entre différentes stratégies. Récemment, Uittenhove et Lemaire (2012) ont mis en évidence un effet de la difficulté séquentielle (EDS) en arithmétique, montrant que les participants (jeunes et âgés) étaient moins performants avec une stratégie lorsque l'exécution de cette stratégie suit l'exécution d'une stratégie difficile que lorsqu'elle suit une stratégie plus facile. Cet effet peut s'expliquer par le fait que l'exécution d'une stratégie difficile mobilise fortement les ressources attentionnelles, ce qui diminue la quantité de ressources disponibles pour exécuter la stratégie sur l'item suivant (Taylor & Lupker, 2001). Cet effet a été répliqué en mémoire (Uittenhove et al., soumis). L'objectif de la présente recherche est d'étudier la possibilité de voir diminuer l'EDS lorsque le temps inter-stimulus est augmenté, afin d'examiner le temps nécessaire pour « recharger » les ressources attentionnelles chez des adultes jeunes et âgés. Nous faisons l'hypothèse que les adultes âgés auront besoin de plus de temps pour que l'EDS disparaisse, étant données la diminution des capacités de traitement comme les ressources attentionnelles dans le vieillissement (Craik, 1990) et le ralentissement cognitif. 80 adultes jeunes (18 - 40 ans) et 80 adultes âgés (60 ans et plus) devaient apprendre deux listes de mots. Les participants étaient répartis aléatoirement dans quatre groupes correspondant à 4 conditions expérimentales, en fonction du temps inter-stimulus : 500 ms entre chaque item vs. 1000 ms vs. 1500 ms vs. 2000 ms. Chaque mot était précédé d'une consigne d'apprentissage (facile : répétition vs. difficile : image mentale) correspondant à la stratégie à utiliser pour apprendre le mot. Ces mots suivies de mots à apprendre avec une autre stratégie (stratégie cible, intermédiaire en termes de difficulté) dont la consigne était « phrase » (faire une phrase avec le mot). On obtenait alors deux types d'essais : les essais difficiles où la stratégie cible était précédée de la stratégie difficile, et les essais faciles où la stratégie cible était précédée de la stratégie facile. La variable dépendante correspond au nombre de mots rappelés et appris avec la stratégie phrase, soit en essai facile soit en essai difficile.

Les données montrent un effet significatif de l'âge et de la difficulté séquentielle sur les performances en mémoire épisodique à 500 ms : les sujets âgés rappellent moins de mots que les sujets jeunes, et globalement, les sujets rappellent moins de mots correspondant aux essais difficiles. L'interaction entre les deux facteurs, n'est pas significative. Nous avons observé une diminution puis une disparition (à 2000 ms) de l'EDS résultant de l'augmentation du temps disponible pour « recharger » les ressources cognitives entre deux stratégies consécutives.

Notre étude confirme l'EDS en mémoire épisodique et suggère que la mise en œuvre de stratégies difficiles en mémoire puiserait plus de ressources attentionnelles que celle de stratégies plus faciles et interférerait sur l'exécution de la stratégie à l'item suivant utilisée pour mémoriser, laissant peu de ressources disponibles pour traiter l'information suivante. Cette information s'en trouverait donc moins bien encodée et par conséquent moins bien retenue. Ceci expliquerait aussi la disparition de l'effet de difficulté séquentielle lorsque le temps de récupération entre les stimuli est plus important. Notons également que bien que les adultes âgés rappellent moins de mots que les adultes jeunes, l'EDS n'interagit globalement pas avec l'âge.

Thème : stratégies mnésiques et vieillissement

Mots clés : effet de difficulté séquentielle, mémoire, stratégies, ressources attentionnelles, vieillissement

Effects of developmental exposure to 17-alpha-ethinylestradiol in adult mouse: neuroendocrine and behavioral outcomes

Derouiche L., Duittoz AH., Pillon D.

UMR INRA- CNRS - Université de Tours -IFCE, 37380 NOUZILLY, France

There is a growing concern over endocrine disrupting chemicals (EDCs) and their potential deleterious effects on reproductive function of wildlife, livestock and also human populations. Ethinylestradiol (EE2) is a pharmacological estrogen largely used in oral birth control pills, it is a potent EDC detected in aquatic environments polluted by effluent wastewater and several studies showed that EE2 altered reproductive function of aquatic animals and mammals. To assess the impact of EE2 on adult reproductive function, we exposed mice to daily environmental (0.1µg/kg/day) or pharmacological (1µg/kg/day) doses of EE2 from their intra uterine development up to puberty. This study aimed at proving the potential effect of developmental exposure to EE2, on neuroendocrine networks controlling reproductive function and also reproductive behaviors. Our results showed that EE2 induced a 92% increase in the number of GnRH neurons in females and a to a less extent significant disruption of this neuroendocrine network in males. Behavioral tests demonstrated that females exposed to EE2 were more anxious than controls and their sexual preference was highly altered. These persistent organizational changes might lead to the alteration of reproductive function and social-sexual behaviors. The issue of EDCs is a major environmental and public health problem and raises serious preoccupations about human and animal health at individual and population level. There is a need to better understand the underlying molecular mechanisms by which these molecules act.

Neuroinflammation et dépression : étude des effets d'un anti-inflammatoire non stéroïdien sur la dépression dans un modèle murin.

Thomas Gosselin^a, Bruno Brizard^a, Anne-Marie Le Guisquet^a, Catherine Belzung^a, Frédéric Minier^a,
Caroline Hommet^{a,b}

^a INSERM U930, équipe « Troubles affectifs » Université François Rabelais, 37200 Tours, France

^b CMRR région Centre et médecine interne gériatrique, hôpital Bretonneau, CHRU Tours

La dépression est une pathologie psychiatrique extrêmement fréquente, un individu sur cinq ayant fait un épisode dépressif majeur au cours de sa vie. Malgré cette forte prévalence, les causes et mécanismes à l'origine de la maladie sont peu connus. Pour le moment, les études se sont essentiellement tournées vers les systèmes monoaminergiques et leurs rôles dans l'apparition et le maintien de la pathologie. Pour autant, en parallèle de ces systèmes, la neuroinflammation semble jouer également un rôle crucial dans la dépression. En effet, plusieurs études ont mis en évidence une augmentation significative des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1, IL-6) ainsi qu'une importante activation microgiale lors d'épisodes dépressifs majeurs, aussi bien chez l'homme que chez l'animal. La neuroinflammation chronique pourrait donc être un facteur à l'origine de l'aspect chronique et des nombreuses rechutes observées dans la maladie.

Pour tester l'hypothèse sur le lien entre activation microgiale et dépression, nous avons utilisé le protocole de stress chronique imprédictible modélisant l'état dépressif chez des souris C57BL6/J. Les animaux ont reçu soit un antidépresseur (la fluoxétine) soit un anti-inflammatoire (ibuprofène). Des mesures comportementales sont effectuées actuellement afin d'observer l'impact des traitements sur les signes dépressifs présents chez les souris. Enfin, nous réaliserons très prochainement des études immunohistochimiques et biochimiques afin d'évaluer et quantifier les différents marqueurs de la neuroinflammation.

Energétique chez les insectes hématophages

Miguel Leis, Marcos Pereira & Claudio Lazzari

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR CNRS 7261 Université François Rabelais, 37200 Tours, France.

Le sang des animaux vertébrés constitue une source riche en nutriments et qui, excepté la présence éventuelle de parasites, est stérile. Beaucoup d'arthropodes ont développé la capacité d'exploiter cette ressource en développant un mode de vie hématophage. Le mode de vie hématophage demande un grand nombre d'adaptations morphologiques, physiologiques et comportementales qui permettent aux insectes hématophages de vivre ensemble avec leurs hôtes vertébrés, de détecter leur présence, pour obtenir le sang qui circule dans les vaisseaux sanguins et gérer un grand repas de sang efficacement. Un problème majeur auquel les hématophages qui vivent en association étroite avec leurs hôtes doivent faire face, c'est de trouver un habitat nouveau lorsque les hôtes vertébrés ont migré ou abandonné leurs nids. C'est le cas des punaises responsables de la transmission de la maladie de Chagas en Amérique du Sud et Centrale. Certaines espèces migrent et ces migrations ne sont pas seulement influencées par la dynamique des populations des hôtes, mais aussi par la variation des conditions environnementales au cours de l'année. Les variations des taux métaboliques sont directement liées à la consommation d'énergie et une manière de les décrire repose sur l'analyse du pattern respiratoire qui est habituellement exprimé par le patron de production de CO₂. Les triatomines ont trois modes respiratoires bien connus: le cycle d'échange de gaz discontinu normalement observé dans le métabolisme de repos, le pattern cyclique et le pattern continu observés au cours des activités les plus coûteuses comme la digestion. Nos travaux portent sur le coût énergétique du repos et des différentes activités physiques chez l'insecte hématophage *Rhodnius prolixus* et comment est l'impact de l'environnement sur son métabolisme en utilisant des analyses respirométriques.

Thème: Ecophysiologie

Mots-clés : Hématophage, métabolisme, pattern respiratoire, *Rhodnius prolixus*

Activité fonctionnelle des récepteurs à la mélatonine (MT1, MT2) dans la glande pinéale d'ovin

Julie Lépinay, Dominique Gennetay, Didier Chesneau, Philippe Delagrance*, Catherine Taragnat et Véronique Bozon

UMR INRA - CNRS - Université de Tours -IFCE, Equipe « Neurobiologie Intégrative de la Reproduction », 37380 NOUZILLY.

* Institut de Recherches Servier, 78290 Croissy-sur-Seine.

La mélatonine (MLT) est une neurohormone synthétisée et sécrétée par la glande pinéale pendant la nuit chez les mammifères. Elle traduit les effets de la durée du jour sur de nombreuses fonctions telles que la reproduction. La MLT interagit avec deux récepteurs couplés aux protéines G, MT1 et MT2, avec une haute affinité. Des études en RT-PCR ont montré la présence d'ARNm codant pour ces récepteurs dans plusieurs tissus dont la glande pinéale d'ovin (Cogé et al., 2009). L'objectif de cette étude est de présenter les résultats préliminaires caractérisant l'expression et les propriétés fonctionnelles des récepteurs MT d'ovin dans les pinéaloctes.

Les cultures primaires de pinéaloctes ont été réalisées à partir de glandes pinéales de moutons âgés de moins de 6 mois. Le taux de mélatonine sécrétée a été mesuré grâce à un dosage RIA suite à une incubation des cellules avec des agonistes et des antagonistes spécifiques des récepteurs α et β adrénergiques. La capacité de la liaison de la 2 - [125I] iodoMLT par les récepteurs MT a été déterminée suivant une cinétique d'incubation (30 min à 2h). Enfin, l'activité fonctionnelle de ces récepteurs a été mise en évidence en mesurant le taux de production d'AMPc par EIA et en identifiant la phosphorylation des Erk 1/2 par Western Blot.

La régulation de la sécrétion de MLT par les agents pharmacologiques adrénergiques est maintenue dans les cultures primaires validant ainsi le modèle d'étude. La liaison spécifique de la 2-[¹²⁵I]-iodoMLT suggère que les récepteurs MT s'expriment majoritairement à la surface des cellules et sont capables de s'internaliser. Suite à une stimulation mélatoninergique, les récepteurs transmettent des signaux intracellulaires en activant les protéines-Gi et la voie des MAP kinases de type Erk 1/2.

L'ensemble de ces données démontre l'expression de récepteurs MT fonctionnels à la surface des pinéaloctes d'ovins en culture primaire. La suite des travaux permettra de caractériser plus précisément le fonctionnement de ces récepteurs ainsi que leur rôle dans ces cellules.

Thème : Neurobiologie et Voie de Signalisation

Mots-clés: récepteur à la mélatonine, mélatonine, glande pinéale, ovin, test de liaison, AMPc, Erk1/2

Long-term odor recognition memory in Depression and Alzheimer's Disease

Marine Naudin^a, Karl Mondon^{a,c}, Wissam El-Hage^{a,b}, Thomas Desmidt^c, Catherine Belzung^a, Philippe Gaillard^{a,b}, Caroline Hommet^{a,c}, Boriana Atanasova^a

^a INSERM U930, équipe « Troubles affectifs » Université François Rabelais, 37200 Tours, France

^b Pôle de Psychiatrie, Clinique Psychiatrique Universitaire, CHRU de Tours, France

^c CMRR région Centre et médecine interne gériatrique, hôpital Bretonneau, CHRU Tours

Many studies have revealed olfactory deficits in psychiatric and neurodegenerative disorders. The detection of specific olfactory markers in these diseases could improve their screening. The aim of the present study was to investigate the long-term odor recognition memory in depressed and Alzheimer's disease patients. In this study, we included 20 patients with unipolar major depressive episode (MDE), 20 patients in mild to moderate Alzheimer's disease (AD) and 24 healthy subjects. We investigated the cognitive profile and the olfactory memory ability to recognize familiar and unfamiliar odors. We found no significant difference between depressed and AD subjects on the olfactory memory testing when the results were analyzed for all odors. However, in MDE patients, we demonstrate a decrease in olfactory memory performance for both familiar and unfamiliar odors while AD subjects failed to recognize only unfamiliar odors, compared to healthy subjects. Our results need to be replicated in a larger population in order to confirm the preserved olfactory memory for familiar stimuli in mild to moderate AD.

Analyse du fluide utérin de *Gallus gallus* par spectrométrie de masse “bottom up” : comparaison de deux lignées de poules et effet de l’insémination artificielle.

C. RIOU, G. HARICHAUX, K. SOUTONIE, A. BRIONNE, J. GAUTRON, V. LABAS, N. GERARD

Physiologie de la Reproduction et des Comportement, UMR PRC 7247 INRA-CNRS-Univ Tours-IFCE, 37380, Nouzilly

Dans cette étude, nous comparons le contenu protéique du fluide utérin issu de 2 lignées de poules divergentes pour leur Durée de Ponte Fertile (DPF-/+). Notre objectif est d’identifier les protéines du tractus génital impliquées dans la survie des spermatozoïdes. Le fluide a été collecté avant et 24h après insémination artificielle (IA). Une approche « bottom-up » utilisant le SDS-PAGE et la nano LC-MS/MS a été choisie. Les données ont été comparées à NCBIInr (Mascot 2.3) validées (Scaffold 3.6.) et quantifiées («spectral counting» par Scaffold Q+ ($p < 0.05$) et «label free» par SIEVE 1.3 ($p < 0.05$ et ratio > 2)). L’expression différentielle de certaines protéines a été vérifiée par western blot. Les 274 protéines identifiées présentent des poids moléculaires compris entre 10 et 541 kDa. Une protéine est présente seulement dans les fluides DPF–, alors que dix protéines sont présentes seulement dans les fluides DPF+. Par ailleurs, six protéines communes varient significativement entre les fluides DPF– et DPF+. Nous avons observé que l’IA induit des différences quantitatives intra-lignée. En conclusion, la stratégie «bottom-up» est une méthode efficace pour identifier les biomarqueurs de la survie des spermatozoïdes dans le tractus génital de la poule.

Thème : fertilité, protéomique

Mots-clés : oiseaux, stockage spermatique, fluide utérin, fertilité, protéomique

Analyse protéomique des fluides du tractus génital de brebis au cours du cycle.

Soleilhavoup C, Riou C, Tsikis G, Gerard N, Labas V, Harichaux G, Druart X

UMR 6175 INRA - CNRS - Université de Tours -IFCE, Equipe « Interactions Cellulaires et Fertilité », 37380 NOUZILLY, France.

La migration des spermatozoïdes dans le tractus génital femelle, depuis le site de dépôt jusqu'au site de fécondation de l'ovule, est un élément clé de la réussite de la reproduction des mammifères. Cette migration se traduit par une interaction entre les spermatozoïdes et les sécrétions des différentes régions du tractus génital (cervix, utérus, oviducte). La composition de ces sécrétions est mal connue et doit être établie pour comprendre le dialogue spermatozoïde / tractus femelle. Pour cela, nous avons analysé par spectrométrie de masse à haute résolution la composition protéique des fluides du tractus génital au cours du cycle oestrien chez la brebis. Un ensemble de 917 protéines a été identifié dans les fluides du tractus parmi lesquelles 170 sont différenciellement présentes au cours du cycle. Les protéines surexprimées en œstrus sont majoritairement retrouvées dans les fluides du cervix et de l'oviducte tandis que les protéines surexprimées pendant la phase lutéale sont majoritairement retrouvées dans les fluides de l'utérus. Les protéines surexprimées en œstrus comprennent des familles de protéines comme les Heat Shock Proteins (HSP) et des enzymes d'oxydoréduction tandis que les protéines surexprimées pendant la phase lutéale sont associées au système immunitaire et au remodelage tissulaire. Plusieurs protéines surexprimées en œstrus sont des candidats potentiels d'interaction avec les gamètes. Cette étude est la première analyse protéomique globale des fluides des différents compartiments du tractus génital femelle et constitue une base de travail pour identifier des facteurs interagissant avec les spermatozoïdes et impliqués dans la fécondation.

Thème : Reproduction

Mots clés : Proteomique, utérus, oviducte, cervix, spermatozoïde

Variabilité de l'efficience d'utilisation de l'eau chez le blé

Sylvain CHAMAILLARD, Isabelle LE JAN, Régis FICHOT et Franck BRIGNOLAS

Université d'Orléans, INRA, Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures, EA 1207, -F-45067
Orléans, France

Aux portes de Paris, la Beauce demeure immobile, figée dans le temps, des champs de blé (*Triticum* spp.) à perte de vue. La Beauce communément appelée « grenier à blé de la France », s'étend sur 7500 km², 5 départements et 450 communes. Le volume d'eau contenu dans l'ensemble du système hydraulique de la nappe de Beauce, est estimé à 20 milliards de m³ d'eau, soit la plus grande nappe d'Europe. Riche de ces trésors, la Beauce se doit d'être préservée. C'est dans ce cadre que le projet Aquateam, lauréat du 12^{ème} appel à projets R&D du Fonds Unique Interministériel, se propose de développer et de mettre à disposition des outils innovants qui permettront de protéger la nappe de Beauce, tant en quantité qu'en qualité. Le Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC) se propose d'utiliser la variabilité génétique de l'efficience d'utilisation de l'eau chez le blé comme outil de gestion raisonnée de la ressource en eau. L'efficience d'utilisation de l'eau (WUE), définie comme le rapport entre la biomasse produite par la plante et l'eau consommée pendant le même laps de temps, peut être estimée indirectement par des mesures de discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13 de la matière organique des feuilles ($\Delta^{13}\text{C}$). Les objectifs du LBLGC sont i) d'estimer la variabilité génétique disponible pour WUE chez 17 variétés de blé et de juger de sa stabilité dans le temps, et ii) de juger du lien entre WUE et le rendement en grains des variétés. Afin d'apporter des éléments de réponse à ces objectifs, un dispositif expérimental a été installé en plein champ et conduit en condition hydrique non limitante par la coopérative d'Agropithiviers. Des différences de $\Delta^{13}\text{C}$ de l'ordre de 2‰ ont été observées entre variétés extrêmes, traduisant des différences de WUE de l'ordre de 30% entre variétés de blé. De plus, le classement des variétés pour $\Delta^{13}\text{C}$ s'est avéré stable au cours de la saison de végétation. Enfin, aucun antagonisme n'a pu être observé entre WUE et le rendement en grains des variétés, suggérant la possibilité de sélectionner sur ce caractère sans diminuer le rendement.

Thème : agronomie, écophysiologie, environnement durable

Mots clés : Beauce, blé, discrimination isotopique vis-à-vis du carbone 13

Production de radionucléides au Cyclotron d'Orléans

I. Da Silva¹ – T. Sauvage¹ – F. Duval¹ - J.P. Trasbot¹ – P. Rifard¹ – W. Hate¹ – P. Sigot - Y. Ben-Sahra¹
 1 - CNRS, CEMHTI UPR3079, Univ. Orléans, F-45071 Orléans, France

Le cyclotron d'Orléans (CEMHTI), de par ses caractéristiques techniques (intensité du courant, type de faisceaux disponibles (proton, deuton, alpha et hélium 4), plage d'énergie (8 à 45 MeV)), permet de produire une grande diversité de radionucléides.

Ainsi, dans le domaine de la recherche en médecine nucléaire, il fournit aussi bien des radionucléides usuels (^{18}F , ^{11}C ..) qu'innovants (^{64}Cu , ^{211}At ..) nécessaires à la synthèse de radiotraceurs ou de radioligands pour des études pré-cliniques. Ces radionucléides ont une demi-vie courte (quelques minutes à quelques jours). Ils sont soit émetteur de positons pour l'examen par TEP (Tomographie par Emission de Positons) ou émetteurs α pour une utilisation dans le domaine de l'alpha immunothérapie (^{211}At).

De la conception des dispositifs d'irradiation à la livraison des radionucléides, l'ensemble du processus de production s'appuie sur un plateau technique interdisciplinaire (mécanique, électronique, physique, radiochimie) : irradiation de cibles solide (^{64}Cu , ^{211}At), liquide (^{18}F) ou gaz (^{11}C), extraction du radionucléide (^{64}Cu), radiomarquage de molécules (^{11}C). Toutes ces étapes impliquent le développement d'automates pour réaliser ces actions afin de limiter l'exposition du personnel à la radioactivité.

Si la production de ^{64}Cu est destinée à des acteurs nationaux (INSERM, CNRS) sous forme de chlorure de cuivre [^{64}Cu]CuCl₂, l'utilisation du [^{11}C]CO₂ se fait localement en raison de sa demi-vie de 20,3minutes. Avec le soutien de la région Centre sur les projets « TUMOTEP » et actuellement « AMI », des collaborations avec l'ICOA, le TAAM et le CBM se mettent en place : images TEP par injection de la méthionine [^{11}C]MET à une souris, module de synthèse de méthylation « fait maison » avec du [^{11}C]CH₃I et premiers essais de radiomarquage sur des hétérocycles de l'ICOA.

Thème : Radiochimie

Mots clés : Radionucléide – Radiomarquage – Carbone 11 – Cuivre 64 – Cyclotron

Utilisation des isotopes stables ^{13}C et ^{18}O dans l'estimation de l'efficience d'utilisation de l'eau des peupliers euraméricains

Marjolaine Couronne⁽¹⁾, Lionel Récan⁽¹⁾, Cécile Vincent⁽¹⁾, Muriel Feinard-Duranceau^(1,2)

⁽¹⁾ Université d'Orléans, UFR-Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures, UPRES EA 1207, rue de Chartres, BP 6759, 45067 Orléans Cedex 02, F.

⁽²⁾ Université d'Orléans, ESPE Centre Val de Loire, site de Châteauroux, 36000 Châteauroux, France

Le réchauffement climatique prévu par divers scénarios provoquerait une hausse des périodes de sécheresses qui pourrait avoir des conséquences économiques sur la production de bois. De nombreuses cultures consommatrices d'eau telles que les peupleraies pourraient en être affectées. Il y a donc une nécessité de sélectionner des génotypes de peupliers utilisant le moins d'eau possible pour produire leur bois c'est-à-dire des génotypes efficaces pour l'utilisation de l'eau. L'efficience d'utilisation de l'eau peut être estimée à plusieurs échelles : à l'échelle de la plante, elle est définie comme la biomasse produite sur l'eau consommée pendant le même laps de temps. À l'échelle de la feuille, on parle d'efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau (W_i), rapport entre l'assimilation nette de CO_2 (A) et la conductance stomatique pour la vapeur d'eau (g_s). W_i peut être estimée directement par des mesures d'échanges gazeux ou bien indirectement par la discrimination isotopique vis à vis du ^{13}C ($\Delta^{13}\text{C}$, ‰) lors de la photosynthèse. De nombreux travaux ont montré une grande variabilité de l'efficience d'utilisation de l'eau chez le peuplier estimée essentiellement par $\Delta^{13}\text{C}$, cependant par cette méthode il n'est pas possible de savoir si ces variations sont dues à l'assimilation nette de CO_2 ou à la conductance stomatique pour la vapeur d'eau. L'objectif de ce travail est d'étudier si une double approche isotopique $^{13}\text{C} / ^{18}\text{O}$ pourrait permettre d'expliquer les causes de la variabilité de l'efficience d'utilisation de l'eau chez le peuplier euraméricain. L'expérimentation a été menée sur de jeunes boutures en serre en conditions hydriques limitante et non limitante et sur des arbres de 8 à 10 ans en peupleraies sur des zones alluviales et hors vallées. La double approche isotopique ainsi que les mesures d'échanges gazeux ont permis de mettre en évidence que les variations de W_i sont dues à g_s pour les boutures en serres en condition hydrique non limitante.

Thème : Ecophysiologie végétale

Mots clés : Efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau, double approche isotopique $^{13}\text{C} / ^{18}\text{O}$, *Populus euramericana*, disponibilité en eau.

Phénotypage moléculaire de la semence de poulet par différentes approches protéomiques

Valérie Labas¹⁻²⁻³⁻⁴⁻⁵, Isabelle Grasseau¹⁻²⁻³⁻⁴, Sabine Alves¹⁻²⁻³⁻⁴, Marie Bourin¹⁻²⁻³⁻⁴, Karine Cahier¹⁻²⁻³⁻⁴,
Audrey Gargaros¹⁻²⁻³⁻⁴, Grégoire Harichaux¹⁻²⁻³⁻⁴⁻⁵, Ana-Paula Teixeira-Gomes⁵⁻⁶⁻⁷, Nadine Gérard¹⁻²⁻³⁻⁴,
Elisabeth Blesbois¹⁻²⁻³⁻⁴

1) INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly

2) CNRS, UMR7247, F-37380 Nouzilly

3) Université François Rabelais de Tours, F-37000 Tours

4) IFCE, Institut Français du Cheval et de l'Équitation, F-37380 Nouzilly

5) INRA, Plate-forme d'Analyse Intégrative des Biomolécules, Laboratoire de Spectrométrie de Masse, F-37380
Nouzilly,

6) INRA, UMR 1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly

7) Université François Rabelais de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37000 Tours

Les systèmes conventionnels de productions avicoles prennent très peu en compte les capacités de reproduction des pères, leur fertilité, la qualité de la semence et une diminution significative des performances de reproduction est actuellement observée. Il est donc important de développer de nouvelles méthodes afin de pouvoir sélectionner le sperme. La protéomique offre de nouvelles perspectives pour évaluer le phénotype de la semence et identifier des marqueurs de fertilité. Dans ce cadre, le but de ce travail était i) de définir la composition protéique de la semence de la principale espèce aviaire domestique, *Gallus gallus*, via l'analyse des spermatozoïdes éjaculés (SPZ) et du plasma séminal (SP), ii) d'établir un phénotype moléculaire caractéristique permettant de distinguer la semence à l'échelle individuelle; iii) et de proposer une première caractérisation de biomarqueurs pour des mâles fertiles ou infertiles. Afin d'identifier les différents peptides et protéines présents dans les SPZ et SP, nous avons utilisé 3 approches protéomiques complémentaires : le profiling MALDI-TOF (à partir de l'analyse directe des cellules et des fluides) couplé à une analyse ciblée par top-down et une analyse par bottom-up (GeLC-MS/MS). Afin de phénotyper la semence à l'échelle individuelle, nous avons utilisé le sperme de plusieurs mâles adultes présentant différents profils de qualité de sperme et effectué sur les SPZ et SP correspondants, des analyses quantitatives par MALDI-TOF ou des analyses par GeLC-MS/MS couplés à 2 méthodes de quantification « Label Free » (spectral count et XIC). Après différentes analyses statistiques (ANOVA, T-test, ACP), plusieurs marqueurs en lien avec la fertilité ont été caractérisés. Plusieurs sont en cours de validation par Western blotting.

Cette étude a ainsi permis d'établir pour la 1^{ère} fois le peptidome / protéome du sperme de coq et de démontrer que les variations phénotypiques à l'échelle moléculaire peuvent être utilisées pour étudier la biologie de la reproduction aviaire.

Imagerie par spectrométrie de masse : nouvelle technologie en Région Centre.

V. Labas¹, S. Canépa¹, F. Foulon¹, G. Harichaux¹, Y. Le Vern², L. Sedano²,
A.P. Teixeira-Gomes¹⁻², S. Uzbebova¹, C. Taragnat¹

1) UMR INRA 85-CNRS 7247-Université François Rabelais, IFCE, Physiologie de la reproduction et des comportements, Centre de Recherches INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly.

2) UMR INRA 1282 - Université François Rabelais, Infectiologie et santé publique, Centre de Recherches INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly.

La Plate-forme d'Analyse Intégrative des Biomolécules et de Phénomique des Animaux d'Intérêt Bio-agronomique (PAIB²) de l'INRA Val de Loire (www.tours.inra.fr/paib) propose son expertise à la communauté scientifique pour établir le phénotype moléculaire, cellulaire et tissulaire des organismes via l'identification et la caractérisation fonctionnelle de marqueurs (peptides, protéines, ARN, métabolites). PAIB² réunit un ensemble de technologies/méthodologies permettant l'analyse phénomique multi-échelles, des tissus, fluides ou cellules jusqu'à la molécule. PAIB² propose ainsi des outils permettant le tri cellulaire ou la collecte de cellules par microdissection laser, la séparation et la purification chromatographique des protéines et des peptides, l'identification des espèces moléculaires et la caractérisation de leurs modifications post-traductionnelles par spectrométrie de masse (SM) jusqu'à l'analyse de leurs interactions par résonance plasmonique de surface avec la recherche de partenaires moléculaires.

Dans le cadre d'une dynamique de veille technologique, PAIB² a acquis récemment un spectromètre de masse MALDI-TOF-TOF dédié au phénotypage cellulaire (analyse directe de cellules entières par SM) et à l'imagerie moléculaire sur tissus, pour localiser et quantifier des marqueurs peptidiques, protéiques ou lipidiques au sein des organes (imagerie 3D). De plus, cet équipement permettra de proposer une imagerie multimodale corrélative *in* et *ex vivo* grâce à son interfaçage avec l'imagerie par résonance magnétique (IRM) sur petits et gros animaux, afin d'obtenir la géométrie et la topologie des marqueurs au sein des organes. Cet outil vient donc renforcer le secteur de l'imagerie anatomique, structurelle et fonctionnelle, avec un continuum d'études allant du corps ou organe entier jusqu'au marqueur moléculaire. En offrant un service unique en Europe et un développement d'approches innovantes dans les domaines agronomique et biomédical, PAIB² fournit aux chercheurs les moyens d'aborder des questions nouvelles et fondamentales en biologie cellulaire et moléculaire dans une perspective de biologie intégrative.

Plateforme RMN collaborative de biologie structurale.

Hervé MEUDAL, Karine LOTH, Laurence JOUVENSAL, Françoise PAQUET et Céline LANDON
Centre de Biophysique Moléculaire, CBM CNRS UPR4301, Rue Charles SADRON, 45071 Orléans cedex 02
celine.landon@cnrs-orleans.fr

Parmi les équipements de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) en milieu liquide que la Fédération de Recherche Physique et Chimie du Vivant (FR2708) vient d'acquérir, un nouveau spectromètre RMN 700MHz de nouvelle génération et équipé d'une crysonde vient d'être installé au Centre de Biophysique Moléculaire (CBM). Il sera dédié aux études de biologie structurale.

Actuellement, les études de biologie structurale développées au CBM trouvent leurs applications dans le domaine médical, avec comme principal contexte les infections nosocomiales ou alimentaires. Le nouvel équipement permettra d'accueillir de nouvelles collaborations nécessitant l'étude de biomolécules d'intérêt biologique et/ou thérapeutique (structures 3D, interactions intermoléculaires, dynamique, ...). L'accès au 700MHz se fera exclusivement sous forme de collaboration avec l'équipe « RMN des biomolécules : structure, dynamique et interactions » dirigée par Céline LANDON. *La plateforme collaborative se mettra en place à partir de 2014.*

En parallèle, l'activité de service RMN pour les analyses chimiques bénéficie désormais de conditions optimales, avec la jouvence du spectromètre à 600MHz et l'acquisition d'un passeur automatique d'échantillons. Toute demande de spectres peut être réalisée auprès de Hervé Meudal (herve.meudal@cnrs-orleans.fr).

Thème : Biologie structurale

Mots clés : Résonance Magnétique Nucléaire, RMN, Biologie structurale, Structures 3D, protéines, biomolécules, interactions moléculaires, dynamique.

Etude du rôle de la caspase-1 dans l'asthme allergique induit par l'allergène d'acarien HDM (House Dust Mite)

Fahima Madouri^{1,2}, Noëlline Guillou¹, Louis Fauconnier², Tiffany Marchiol², Lionel Apetoh^{3,4,5}, François Ghiringhelli^{3,4,5}, Fabrice Trovero², Valérie Quesniaux¹, Bernhard Ryffel¹ and Dieudonnée Togbe^{1,2}.

¹ Laboratory of experimental and molecular immunology and neurogenetics (INEM), UMR 7355 CNRS-University of Orleans, 3B, rue de la Ferrollerie, F-45071 Orleans-Cedex2, France, University of Orleans ² Artimmune SAS, 13 Avenue Buffon, 45100-Orléans, France ³ Faculté de Médecine, University of Bourgogne, Dijon, France ⁴ INSERM, U866, Dijon, France ⁵ Centre Georges François Leclerc, Dijon, France

L'asthme et les maladies respiratoires sont en forte expansion ces dernières années. Les réponses immunitaires de l'hôte, et notamment la réponse inflammatoire peuvent entraîner une destruction tissulaire au niveau des bronches et des poumons. Cette pathologie respiratoire peut être d'origine allergique ou non.

La caspase-1 est une protéase présente dans plusieurs inflammasomes et à l'origine de la maturation de la pro-Interleukine-1 bêta (pro-IL-1 β) en Interleukine-1 bêta (IL-1 β) et donc dans le processus inflammatoire. Les travaux précédents au laboratoire ont démontré l'importance de l'IL-1 β dans l'asthme. Ainsi, nous nous sommes intéressés au rôle de la caspase-1 dans l'asthme allergique induit par l'allergène d'acarien HDM.

Les résultats obtenus ont montré chez les souris déficientes en caspase-1 (Casp-1^{-/-}) traitées avec HDM une éosinophilie accentuée par rapport aux souris sauvages (WT) ainsi qu'une augmentation de la production des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β et IL-33. Cette dernière étant également une cytokine clé de l'inflammation pulmonaire, nous avons cherché à comprendre la relation entre la caspase-1 et l'IL-33 dans notre modèle d'asthme allergique. Le blocage de l'IL-33 par la protéine de fusion mu ST2-Fc provoque une diminution de l'inflammation allergique chez les souris WT traitées avec HDM.

En conclusion, ces résultats suggèrent pour la première fois que l'activation de la caspase-1 réduit la production d'IL-33 *in vivo* et régule ainsi la réponse Th2 dans un modèle d'inflammation pulmonaire induit par HDM.

Thème : L'asthme allergique induit par un allergène d'acarien HDM (House Dust Mite)

Mots clés : House Dust Mite, Acarien, Asthme allergique, Eosinophiles, Caspase-1, Inflammasomes, Interleukine-33, Interleukine-1 bêta

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF TRI-HETEROCYCLIC DERIVATIVES AS NOVEL CYCLIN-DEPENDANT KINASES INHIBITORS

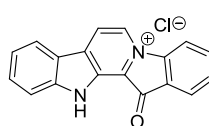
Christine Baltus,¹ Gildas Prié,¹ Christophe Marot,¹ Fabrice Gouilleux,²
and Marie-Claude Viaud-Massuard¹

¹EA 6306 Innovation Moléculaire et Thérapeutique, Fédération GICC UMR 7292 CNRS- Université de Tours, Labex SYNORG,* Université de Tours, 31 avenue Monge, 37200 TOURS.

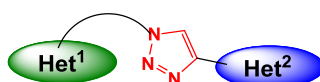
²Equipe LNOx "Niche leucémique & métabolisme oxydatif" - UMR 7292 CNRS - Faculté de Médecine - Bâtiment Dutrochet - 10^{bis} bd Tonnellé - 37032 TOURS.

The cellular cycle is one of the most important targets in the anti-cancer treatment and the Cyclin-Dependant Kinases (CDK) play key roles in its regulation. Cyclin D and their partners CDK4 and CDK6 show pro-oncogenic properties and their functions are regulated by a group of inhibitors (CKI) which bind to the complex cyclin D-CDK in order to inhibit their kinase activity. It is known that CKIs are deregulated in many primary tumors. Though, it is essential to find new molecules, mimics of these CKIs, able to selectively inhibit one of the actors of the cellular cycle, here CDK4, in order to develop new anti-carcinogen agents.¹

Thanks to a virtual screening of CKIs described in the literature, such as Fascaplysin (IC₅₀ (CDK4): 0.35 µM),² a family of compounds containing a tri-heterocyclic scaffold has been identified to be relevant for the inhibition of CDK4. We present here the synthesis and the biological activity of a new series of different 7-azaindole scaffolds connected by a triazol type linker. The key step of the synthesis is a Huisgen's cycloaddition [3+2] of an azide and an alkyne substituted respectively on 7-azaindole type heterocyclic derivatives.³ Moreover, a molecular modeling study (QSAR CoMFA) was achieved in order to improve the Structure-Activity Relationship.



Fascaplysin



Tri-heterocyclic molecules developped.

1. (a) Fåhræus, R.; Laín, S.; Ball, K. L.; Lane, D. P. *Oncogene* **1998**, 16, 587–596. (b) Cirillo, D.; Pentimalli, F.; Giordano, A. *Current Med. Chem.* **2011**, 18, 2854–2866.
2. Soni, R.; Muller, L.; Furet, P.; Schoepfer, J.; Stephan, C.; Zumstein-Mecker, S.; Fretz, H.; Chaudhuri, B. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, 275, 877–884.
3. Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Drug Discov. Ther.* **2003**, 8, 1128–1137.

*: ANR-11-LABX-0029.

Effet des ultrasons sur les fibres de lin et de coco

Sullivan RENOUE¹, Jean-Philippe BLONDEAU², Pierre OUAGNE³ et Eric LAINE¹

¹Laboratoire de Biologie des ligneux et des grandes cultures UPRES EA 1207, équipe lignanes des linacées, université d'Orléans (antenne scientifique universitaire de Chartres), 21 rue Loigny la Bataille 28000 CHARTRES

²Conditions Extrêmes et Matériaux : Haute Température et Irradiation -CNRS UPR3079, 1D avenue de la Recherche Scientifique 45071 ORLEANS cedex 2

³Univ. Orléans, PRISME, EA 4229, Orléans, France

Dans le cadre du projet d'intérêt régional GEFIL, nous souhaitons réaliser une analyse comparative entre les fibres de lin et de coco, afin de déterminer le potentiel des fibres de lin produites localement pour substituer les fibres de coco (importées d'Inde) dans la composition des géotextiles stabilisant les berges des rivières.

A cet effet, nous allons comparer et caractériser la résistance à la dégradation des fibres de lin et de coco.

Pour ce faire, nous procéderons à une dégradation aux ultrasons, ces derniers permettant de créer en solution des bulles de cavitation qui, en explosant, détériorent les fibres. De plus, ce dégazage peut aussi induire la formation de radicaux libres oxydants.

Nous avons déterminé les conditions optimales de dégradation (temps d'incubation, puissance) des fibres de lin et de coco aux ultrasons, l'évolution de la composition chimique des fibres au cours de la dégradation (par spectrométrie infrarouge) ainsi que l'impact de la dégradation sur les propriétés mécaniques des fibres. Les analyses indiquent que les ultrasons induisent, chez les fibres de lin et de coco, une disparition significative de la cellulose, de l'hémicellulose, de la lignine et des pectines avec un impact plus marqué sur l'hémicellulose.

Globalement, les fibres de lin sont moins sensibles à la dégradation par les ultrasons que les fibres de coco.

Thème : Etude phytochimique de fibres végétales

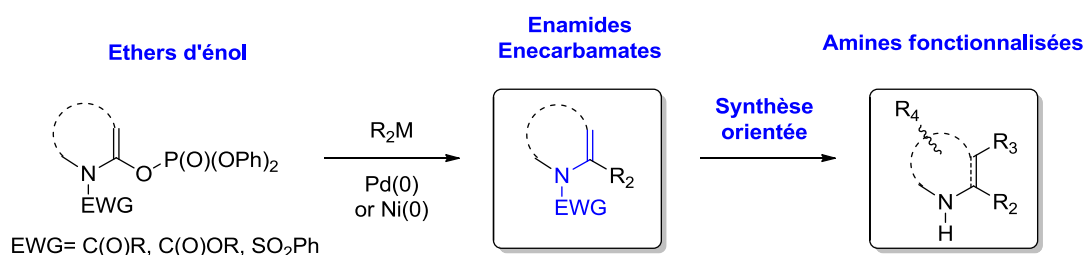
Mots clés : Fibres de coco, fibres de lin, FTIR, géofilets, hémicellulose, ultrasons

Fonctionnalisations directes métallo-catalysées d'énamides

R. REY RODRIGUEZ¹, N. GIGANT¹, P. BOUYSSOU¹ and I. GILLAIZEAU¹

¹ ICOA, UMR CNRS 7311, Université d'Orléans, Orléans, France
romain.reyrodriquez@gmail.com, www.icoa.fr

L'intérêt croissant à développer de petites molécules diverses et originales possédant des propriétés thérapeutiques ainsi que la nécessité de comprendre les mécanismes biologiques décrivent le besoin croissant de développer continuellement et de façon effective de nouvelles méthodologies de synthèse. Au vu de l'ubiquité de l'atome d'azote au sein des molécules bioactives et/ou naturelles, notre but est de développer de façon stéréosélective et régiosélective la synthèse de nouveaux synthons hétérocycliques azotés grâce à la fonctionnalisation d'énamides.



Dans cette optique, nous voulons mettre au point des réactions directes métallo-catalysées dont la diversité et la stéréosélectivité vont conduire à une vaste gamme de produits naturels et/ou d'analogues potentiellement bioactifs. Cette stratégie apparaît comme un outil de choix pour la synthèse divergente de molécules d'intérêts biologiques (DOS) par fonctionnalisation directe de squelettes azacycliques.

Thème : Méthodologie de synthèse

Mots-clés : Hétérocycle azoté, catalyse métallique, chimie des nitrènes

Le laboratoire de Bioséparations de la plate-forme PAIB²

A.P. Teixeira-Gomes¹⁻²

1) UMR INRA 1282 - Université François Rabelais, Infectiologie et santé publique, Centre de Recherches INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly.

2) UMR INRA 85-CNRS 7247-Université François Rabelais, IFCE, Physiologie de la reproduction et des comportements, Centre de Recherches INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly.

Le Laboratoire de Bioséparations est intégré à la Plate-forme d'Analyse Intégrative des Biomolécules et de Phénomique des Animaux d'Intérêt Bio-agronomique (PAIB²) de l'INRA Val de Loire (www.tours.inra.fr/paib).

Il propose à la communauté scientifique publique et privée une expertise et une assistance pour mener à bien des approches dans le domaine de la :

- préparation des échantillons biologiques (fractionnement, enrichissement...)
- séparation, purification et quantification de protéines et peptides issus de divers modèles animaux ou microbiens utilisés dans le cadre de thématiques de recherche variées.

Les services proposés par ce laboratoire vont du conseil sur les stratégies à adopter, la conception et la mise en œuvre des méthodologies jusqu'à la mise au point et l'optimisation de nouvelles approches méthodologiques dans le domaine de la préparation d'échantillons biologiques et la purification de biomolécules.

Le laboratoire de Bioséparations dispose d'un ensemble complet d'outils analytiques et bio-informatiques permettant la mise en œuvre de différentes techniques séparatives électrophorétiques (mono et bi-dimensionnelles) et chromatographiques multidimensionnelles. Un nouveau système chromatographique HPLC, l'UltiMate 3000 RSLC (Thermo Scientific Dionex) a été acquis récemment. Cet équipement financé à 100% par la région Centre dans le cadre du projet OVISPERM, permettra la purification de biomolécules natives et recombinantes.

Mots clés : plate-forme, purification, protéines, peptides, chromatographie

Les conférences sont classées par ordre de présentation au colloque et les posters sont classés par ordre alphabétique. **Les numéros indiqués correspondent au numéro de page** du résumé de la conférence ou du poster.

Alirol S., page 41
Almin M.R., page 80
Andrault P.M., page 42

Buron F., page 7
Belzung C., page 5
Bernard P., page 33
Bonelli M., page 81
Bosc N., page 66
Burger L., page 82

Chadet S., page 54
Chamaillard S., page 90
Chateigner A., page 55
Chevignon G., page 30
Chirault M., page 8
Cochard H., page 20
Coudert E., page 43
Courdavault V., page 22
Corbin C., page 67

D'Heygere F., page 70
Da Silva I., page 91
Dangoumau A., page 24
Darroutet E., page 11
Delaval J., page 28
Djeghdir I., page 69
Deraredj W., page 68
Déroutiche L., page 83
Driffort V., page 44

Eid R., page 45

Feinard-Duranceau M., page 92
Fichot R., page 21
Foureau E., page 46
Foucault A., page

Gaudin S., page 9
Guesdon W., page 57
Guet J., page 15
Guihur A., page 47
Guillotin L., page 72
Gnahoui –David A., page 56
Gosselin M.P., page 71
Gosselin T., page 84

Haran J., page 73
Hébert B., page 16
Henry C., page 58
Herdewijn P., page 12
Herzine A., page 74
Houillé B., page 48
Huguet K., page 59
Hurtado G., page 31

Jaber M., page 6
Jelassi B., page 49

Kasabova M., page 50
Kazma I., page 60
Khemissi W., page 10

Labas V., page 93-94
Lajoie L., page 25-26
Lakhri L., page 61
Lamort A.S., page 51
Landon C., page 95
Le Meur R., page 75
Leis M., page 85
Legrain P., page 19
Lépinay J., page 86
Lopez-Vaamonde C., page 13

Madouri F., page 96
Maillard A., page 29
Marie P., page 52
Maunit B., page 14
Mazor M., page 76
Meudal H., page 97
Meunier A., page 34
Moine E., page 62
Morisse S., page 32

Naudin M., page 87
Nguyen H.T.P., page 53

Patron K., page 63
Pineau X., page 77
Prié G., page 97

Remenarić M., page 78
Renouard S., page 98
Riou C., page 88
Rodriguez R., page 99
Rossignol A., page 64

Sarasin A., page 35
Segueni N., page 79
Silpa L., page 65
Soleilhavoup C., page 89

Tallet N., page 23
Teixeira-Gomes A.P., page 100
Terrier V., page 101
Touvier J., page 17

Wannous R., page 27