



*Les Biosciences  
en Région  
Centre Val de Loire*

**ACTES**  
*du*  
**31<sup>ème</sup> Colloque**  
**BIOTECHNOCENTRE**

**11-12 Octobre 2018**  
*Seillac (Loir et Cher)*

*Avec le concours du Conseil Régional*



**Christian ANDRES**, Université de Tours, [andres@med.univ-tours.fr](mailto:andres@med.univ-tours.fr) - **Hélène BENEDETTI**, CBM-CNRS Orléans, [helene.benedetti@cnrs-orleans.fr](mailto:helene.benedetti@cnrs-orleans.fr) - **Catherine BEAUMONT** INRA Nouzilly, [catherine.beaumont@inra.fr](mailto:catherine.beaumont@inra.fr), **Marc BERTRAND**, Technologie Servier, [marc.bertrand@fr.netgrs.com](mailto:marc.bertrand@fr.netgrs.com) - **Franck BRIGNOLAS**, Université d'Orléans, [franck.brignolas@univ-orleans.fr](mailto:franck.brignolas@univ-orleans.fr) - **Norbert BROMET**, Biotec Centre, [bromet.n@gmail.com](mailto:bromet.n@gmail.com) - **Bertrand CASTAING**, CBM-CNRS Orléans, [castaing@cnrs-orleans.fr](mailto:castaing@cnrs-orleans.fr) - **Jean-Claude CHENIEUX**, Université de Tours, [chenieux@univ-tours.fr](mailto:chenieux@univ-tours.fr) - **Jean-Louis DACHEUX**, UMR INRA CNRS Nouzilly, [jean-louis.dacheux@orange.fr](mailto:jean-louis.dacheux@orange.fr) - **Catherine DAGORN-SCAVINER**, Région Centre, [Catherine.dagorn-scaviner@regioncentre.fr](mailto:Catherine.dagorn-scaviner@regioncentre.fr) - **Sophie EHRHARDT**, polepharma, [sophie.ehrhardt@polepharma.com](mailto:sophie.ehrhardt@polepharma.com), **Francis GAUTHIER**, Université de Tours, [francis.gauthier@univ-tours.fr](mailto:francis.gauthier@univ-tours.fr) - **Nathalie GUIVARC'H**, Université de Tours, [nathalie.guivarch@univ-tours.fr](mailto:nathalie.guivarch@univ-tours.fr) - **Michel MONSIGNY**, CNRS Orléans, [monsigny@cnrs-orleans.fr](mailto:monsigny@cnrs-orleans.fr) - **Gilles PILATE**, INRA Ardon, [gilles.pilate@inra.fr](mailto:gilles.pilate@inra.fr) - **Henri SALMON**, INRA Nouzilly, [hsalmoncr@gmail.com](mailto:hsalmoncr@gmail.com) - **Catherine TARAGNAT**, INRA Nouzilly, [catherine.taragnat@inra.fr](mailto:catherine.taragnat@inra.fr) - **Marie-Claude VIAUD-MASSUARD**, Université de Tours, [marie-claude.viaud-massuard@univ-tours.fr](mailto:marie-claude.viaud-massuard@univ-tours.fr) -

*Président: Christian Andrés* [andres@med.univ-tours.fr](mailto:andres@med.univ-tours.fr) -

*Secrétariat : Nathalie Riche* [biotechnocentre@sfr.fr](mailto:biotechnocentre@sfr.fr)

Chères participantes, chers participants, chers collègues,

Bienvenue au 31<sup>ème</sup> colloque de Biotechnocentre !

Nous arrivons cette année au bout du cycle des 4 années du réseau thématique de recherche (RTR) financé par la Région Centre Val de Loire. Un nouvel appel d'offre est en cours, et nous espérons bien continuer notre action en faveur de la recherche et du développement dans les domaines des Sciences de la Vie, de la Santé et du Bien-Être en Région Centre Val de Loire. Ceci est l'occasion de remercier notre principal soutien financier, la Région, sans laquelle ce colloque n'aurait pas lieu.

Nous aurons cette année 12 conférences de chercheurs, dans des domaines allant de la reproduction des cerfs à la détection de cellules cancéreuses dans le sang. Cette variété de thématiques, exposées par des chercheurs leaders dans leur domaine, est à la fois un stimulant intellectuel pour la démarche scientifique, quel que soit le niveau et le domaine de spécialité dans lequel on travaille, et le moyen de connaître les activités des collègues, qui souvent occupent le bureau d'à côté et qu'il faut rencontrer dans un congrès à l'autre bout du monde pour découvrir leurs passionnantes recherches. Avec Seillac, qui n'est pas le bout du monde mais un lieu tranquille et agréable, nous pouvons favoriser ces discussions et permettre les interactions multiples, entre chercheurs, entre étudiants et chercheurs, entre personnes issues du monde académique et du monde privé, dans un esprit où la science et le développement prennent le dessus sur la concurrence, les évaluations et le stress quotidien de nos activités. Un moment de réflexion, de prise de distance, voire de remise en cause de nos travaux, mais c'est la démarche scientifique, la seule qui permette d'avancer !

Les doctorants seront aussi à l'honneur, avec 12 présentations orales choisies parmi les propositions soumises par l'Ecole Doctorale SSBCV 549 (Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant), commune aux Universités d'Orléans et de Tours et les 61 posters que nous vous encourageons à visiter. Comme chaque année depuis 7 ans, des prix des meilleures communications orales et meilleurs posters aux doctorants seront décernés à l'issue du colloque.

Un temps sera aussi consacré à l'assemblée générale de l'association loi 1901 qu'est Biotechnocentre, pour le renouvellement des membres du Conseil d'Administration et l'approbation des comptes. Vous êtes tous membres de Biotechnocentre par votre participation au colloque.

Je voulais aussi remercier les différentes structures et entreprises qui nous soutiennent (voyez les logos à la fin de ce livret), ainsi que tous les bénévoles de Biotechnocentre qui permettent le bon déroulement de cette manifestation.

Je vous souhaite un très bon colloque 2018 et vous donne rendez-vous en 2019 pour la journée thématique qui aura lieu en juin et le 32<sup>ème</sup> colloque en octobre !

Christian Andres  
Président de Biotechnocentre

# Conférences

**1- Les ligands du récepteur de la ghréline : de la pailleasse au médicament**

*Jean Alain FEHRENTZ*

**2- Développement d'analogues de la kisspeptine pour la maîtrise de la reproduction en élevage, Contrat Région Centre Val de Loire**

*Massimiliano BELTRAMO*

**3- Offre de services du pôle de compétitivité Atlanpôle Biotherapies aux entreprises pour l'ingénierie de projets collaboratifs d'innovation : principaux outils de financement de la R&D**

*Benoit-Jules YOUBICIER-SIMO*

**4- Field-metabolomics of Vitis vinifera L. stems provides new insights for genotype discrimination and polyphenol metabolism structuring**

*Kevin BILLET*

**5- Etude de la capacité d'échappement de la glycoprotéine d'enveloppe du VIH-1 à la restriction médiée par les protéines IFITM**

*Aurélie DROUIN*

**6- Rôle du miR-21-3p dans l'hyperprolifération kératinocytaire induit par l'IL-22 dans le cadre du psoriasis**

*Florence ABDALLAH*

**7- Approche écotoxicologique pour résoudre l'énigme de la disparition des butineuses chez l'abeille domestique**

*Axel DECOURTYE*

**8- Modulation of FSH receptor- and GPR54 signalling with conjugated nanobodies**

*Francesco DE PASCALI*

**9- Trafic et devenir intracellulaire de SiRNA nanovectorisés sur un modèle de cancer du sein triple négatif**

*Sanaa BEN DJEEMA*

**10- Réponses adaptatives des semis de peuplier noir face au changement climatique**

*Marlène LEFEBVRE*

**11- ISET : Nouvelle approche pour le suivi et le diagnostic précoce des cancers invasifs**

*Patrizia PATERLINI-BRECHOT*

**12- Valorisation cosmétique d'extraits de bois de Robinier, Contrat Région Centre Val de Loire**

*Christian BRETON*

**13- Nouvelles approches pharmacologiques pour soulager les troubles autistiques dans des modèles précliniques de la pathologie**

Jérôme BECKER

**14- Nouveaux ciments à base de phosphates de calcium, pour la chirurgie de reconstruction osseuse**

*Bruno BUJOLI*

**15- Régulation du canal SK3 par les éther-lipides endogènes dans des cellules de cancer du sein**

*Delphine FONTAINE*

**16- L'invasine Rck de Salmonella Typhimurium module le cycle cellulaire de l'hôte pour faciliter l'infection**

*Julien MAMBU*

**17- D'un réseau de fragments 3D à la conception de nouveaux inhibiteurs de kinases**

*Colin BOURNEZ*

**18- MAbSilico: in silico methods for antibody development**

*Astrid MUSNIER*

**19- Je ne suis pas d'humeur ! Effet de l'hormone juvénile sur le statut reproducteur et l'agressivité chez les femelles d'une guêpe parasitoïde**

*Anthony MATHIRON*

**20- Tunable approach to the synthesis of iminosugar-C-glycosides through the application of the Stille cross-coupling**

*Justyna JASZCZYK*

**21- Perception émotionnelle et sensorielle et symptômes dépressifs, quels liens ?**

*Marion ROCHET*

**22- Influences de l'hybridation entre le cerf sika et élaphe (C.n.nippon x C.e.scoticus) sur l'endocrinologie de la gestation et la mise en place de la relation mère-jeune, Contrat Région Centre Val de Loire**

*Yann LOCATELLI*

**23- Systèmes d'expression « cell-free » : de nouvelles possibilités pour la production de protéines**

*Bruno TILLIER*

**24- Imagerie par spectrométrie de masse en science des plantes et des aliments. Une perspective en 3D**

*Hélène ROGNIAUX*

# ***CONFERENCES***

## Les ligands du récepteur de la ghréline : de la paille au médicament

Jean-Alain Fehrentz, Vincent Guerlavais, Céline M'Kadmi, Marjorie Damian, Sophie Mary, Didier Gagne, Mathieu Maingot, Khoubaid Ben Haj Salah, Séverine Denoyelle, Jean-Louis Banères, Jacky Marie, Jean Martinez

Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), UMR 5247, CNRS - Université Montpellier - ENSCM, Faculté de Pharmacie, 15 avenue Charles Flahault, 34093 Montpellier Cedex 5, France

Le récepteur de la ghréline (GHSR pour growth Hormone Secretagogue Receptor) est un récepteur couplé aux protéines G qui contrôle la sécrétion d'hormone de croissance, la prise alimentaire et le système de récompense. Etant impliqué dans différents désordres physiologiques tels que l'obésité et l'addiction (drogues, alcool...), il présente un grand intérêt pour le développement de petites molécules thérapeutiques.

Nous avons récemment décrit un puissant sécrétagogue de l'hormone de croissance, le pseudopeptide JMV 1843. Ce composé est un agoniste sélectif du GHSR capable de mimer l'action de la ghréline par voie orale chez l'homme. Il a passé avec succès les phases cliniques et vient d'être approuvé par la FDA pour le diagnostic de la déficience en hormone de croissance chez l'adulte. Il est commercialisé aux US et au Canada depuis juillet 2018 sous le nom de Macrilen™. Il est également en étude clinique phase 2 pour le traitement de la cachexie. L'implication de ce récepteur dans la prise alimentaire nous a incités à rechercher des antagonistes. Partant du composé JMV 1843, nous avons conçu des composés contenant le motif hétérocyclique 1,2,4-triazole. A ce jour, notre chimiothèque inclut plus de 800 molécules hétérocycliques agonistes, antagonistes ou agonistes inverses de ce récepteur, dont certaines sont en développement. Nous présenterons quelques résultats de cette étude sur les triazoles ainsi que leur activité biologique.

## **Développement d'analogues de la kisspeptine pour la maîtrise de la reproduction en élevage**

### **«Reprokiss»-Projet d'intérêt régional 2012-2015**

Massimiliano Beltramo<sup>1</sup>, Caroline Decourt<sup>1</sup>, Vincent Robert<sup>1</sup>, Didier Lomet<sup>1</sup>, Karine Anger<sup>1</sup>, Mathieu Galibert<sup>2</sup>, Jean-Baptiste Madinier<sup>2</sup>, Agnès Delmas<sup>2</sup>, Greg Anderson<sup>3</sup>, Vincent Aucagne<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements (INRA, UMR85; CNRS, UMR7247; Université François Rabelais Tours; IFCE), F-37380 Nouzilly, France; <sup>2</sup>Centre de Biophysique Moléculaire (CNRS UPR 4301), F-45071 Orléans cedex 2, France ; <sup>3</sup>Centre for Neuroendocrinology, University of Otago School of Medical Sciences, Dunedin 9054, New Zealand.

Au cours des dernières années, le rôle clé de la kisspeptine (Kp), un neuropeptide, et de son récepteur, KiSS1R, dans le contrôle central de la reproduction ont été clairement démontrés. L'invalidation du gène KiSS1R, soit suite à mutation spontanée soit par manipulation génétique, conduit à l'infertilité. Par contre, l'injection intraveineuse de Kp stimule la sécrétion de la GnRH et déclenche une augmentation de la LH. Ces résultats montrent le grand intérêt du système à Kp comme cible pour contrôler la reproduction. Néanmoins la demi-vie inférieure à une minute de la Kp dans le sang constitue un verrou majeur à son utilisation. Pour lever ce verrou, grâce à une approche chimique originale qui associe dans la même molécule un triazole peptidomimétique et un motif liant l'albumine, nous avons développé des analogues de la Kp résistants à la dégradation et à l'excrétion rénale. Chez les petits ruminants (brebis et chèvre), une injection intramusculaire du meilleur analogue (C6), en combinaison avec un traitement progestatif, est capable d'induire des ovulations fertiles en période de reproduction aussi bien qu'en saison d'anoestrus. Par ailleurs, des injections répétées chez des souris femelles avancent significativement la puberté. L'ensemble de ces résultats très prometteurs permet d'envisager le développement d'applications pour réduire l'utilisation d'hormones dans le contrôle de la reproduction chez les animaux d'élevage et pour le traitement de certaines pathologies humaines du système reproducteur.

Financé par la Région Centre-Val de Loire (projets Reprokiss et Capriss) et l'ANR (ANR-15-CE20-0015-01).

## **Offre de services du pôle de compétitivité Atlanpole Biotherapies aux entreprises pour l'ingénierie de projets collaboratifs d'innovation : principaux outils de financement de la R&D**

Benoît-Jules Youbicier-Simo

Pôle de compétitivité Atlanpole Biotherapies

Le pôle de compétitivité Atlanpole Biotherapies propose aux entreprises innovantes en santé présentes sur son territoire une offre de services pour l'innovation comprenant notamment :

- ✚ des activités d'animation au sein de l'écosystème d'innovation,
- ✚ l'accès à un réseau de clusters étrangers pour le développement à l'international,
- ✚ une assistance technique pour la constitution de dossiers de demande de financement de l'innovation au travers de la recherche partenariale.

Les entreprises, en particulier les PME, ont une connaissance limitée des sources de financement publiques de la recherche collaborative dont elles peuvent bénéficier.

Le 31<sup>ème</sup> colloque Biotechnocentre offre un espace d'échange privilégié avec les entreprises basées sur le territoire d'Atlanpole Biotherapies concernant :

- ✚ les principaux dispositifs de financement français et européens qui leur sont dédiés,
- ✚ l'offre du pôle en matière d'ingénierie de projets collaboratifs d'innovation.

La finalité de cet échange est stimuler l'émergence de nouveaux projets permettant de répondre aux besoins d'innovation des entreprises.

## Field-metabolomics of *Vitis vinifera* L. stems provides new insights for genotype discrimination and polyphenol metabolism structuring

Kévin Billet<sup>a</sup>, Benjamin Houillé<sup>a</sup>, Thomas Dugé de Bernonville<sup>a</sup>, Sébastien Besseau<sup>a</sup>, Audrey Oudin<sup>a</sup>, Vincent Courdavault<sup>a</sup>, Guillaume Delanoue<sup>b</sup>, Laurence Guérin<sup>b</sup>, Marc Clastre<sup>a</sup>, Nathalie Giglioli-Guivarc'h<sup>a</sup>, Arnaud Lanoue<sup>a</sup>

<sup>a</sup> EA 2106, Biomolécules et Biotechnologies Végétales, Université de Tours, France

<sup>b</sup>Institut Français de la Vigne et du Vin, Vinopôle Centre Val de Loire, France

Grape accumulates numerous polyphenols with abundant health benefit and organoleptic properties that *in planta* act as key components of the plant defense system against diseases. Considerable advances have been made in the chemical characterization of wine metabolites particularly volatile and polyphenolic compounds. However, the metabotyping, (metabolite-phenotype characterization) of grape varieties, from polyphenolic-rich vineyard by-product is unprecedented. As this composition might result from the complex interaction between genotype, environment and viticultural practices, a field experiment was setting up with uniform pedo-climatic factors and viticultural practices of growing vines to favor the genetic determinism of polyphenol expression. As a result, UPLC-MS-based targeted metabolomic analyses of grape canes from 8 *Vitis vinifera* L. cultivars allowed the determination of 42 polyphenols related to phenolic acids, flavonoids, procyanidins and stilbenoids as resveratrol oligomers (degree of oligomerization 1 to 4). Using a partial least-square discriminant analysis approach, grape cane chemical profile were discriminated according to their genotypic origin showing that polyphenol profile express a varietal signature. Furthermore, hierarchical cluster analysis highlights various degree of polyphenol similarity between grape varieties that were in agreement the genetic distance using cluster analyses of 22 microsatellite DNA markers. Metabolite correlation network suggested that several polyphenol subclasses were differently controlled. The present polyphenol metabotyping approach coupled to multivariate statistical analyses might assist grape selection programs to improve metabolites with health-benefit potential and plant defense traits.

## **Etude de la capacité d'échappement de la glycoprotéine d'enveloppe du VIH-1 à la restriction médiée par les protéines IFITM**

Aurelie DROUIN, Mélanie BOUVIN-PLEY, Martine BRAIBANT  
(INSERM U1259-Tours)

La protéine IFITM3 (*InterFeron-Induced TransMembrane protein 3*) fait partie de la réponse immunitaire innée. Elle bloque l'entrée de nombreux virus dans la cellule hôte non infectée. Dans le cas du VIH, il a été montré qu'elle agit également dans la cellule infectée en s'incorporant au sein des virus lors de leur formation, diminuant ainsi leur capacité à infecter de nouvelles cellules, après leur libération. Toutefois, le mécanisme de cette restriction reste méconnu. Dans ce contexte, l'objectif de ma thèse était d'étudier le rôle de la glycoprotéine d'enveloppe (Env) du VIH, exprimée à la surface du virus et jouant un rôle déterminant dans les premières étapes de l'infection, dans la capacité du virus à échapper à l'action des protéines IFITM3.

A partir du plasma de 6 patients infectés et de 2 souches virales adaptées de laboratoire, nous avons généré 16 virus pseudotypés ne différant que par les Envs exprimées à leur surface et par l'incorporation ou non de la protéine IFITM3 dans leur membrane. L'infectivité des virus infectieux obtenus, le taux d'incorporation de la protéine IFITM3 et le niveau d'expression des Envs ont été analysés. La sensibilité à la neutralisation a également été testée en présence d'un panel d'anticorps neutralisants. Enfin, l'interaction entre IFITM et Env a été recherchée par co-immunoprécipitation.

L'infectivité des virus dans les cellules cibles varie en présence d'IFITM3. Certains virus semblent très sensibles à la restriction médiée par la protéine (jusqu'à 60% d'inhibition de l'infection par rapport au virus sans IFITM) tandis que d'autres sont résistants (aucune inhibition de l'infection voire une augmentation). Le niveau d'incorporation de la protéine IFITM3 au sein des virions n'est pas responsable des différences d'infectivité observées. De plus, l'incorporation des protéines IFITM3 ne modifie pas le niveau d'expression des Envs à la surface des virus. Les expériences de co-immunoprécipitations ont permis de montrer une interaction spécifique entre la protéine IFITM3 et les Envs. Enfin, les données de sensibilité à la neutralisation suggèrent l'implication de la région MPER de la gp41 dans la sensibilité des virus à IFITM3. Cette région est exposée transitoirement après la liaison du virus à son récepteur et co-récepteur précédant le processus de fusion des membranes cellulaire et virale. La protéine IFITM3 pourrait donc modifier la conformation des enveloppes des virus sensibles et agir sur leur capacité de fusion. Outre la démonstration de la capacité d'échappement du VIH aux facteurs de restriction développés par son hôte, ces résultats permettront d'acquérir de nouvelles connaissances quant aux mécanismes d'échappement impliqués.

**Mots clés** : VIH, IFITM, Interferon, facteur de restriction

## Rôle du miR-21-3p dans l'hyperprolifération kératinocytaire induit par l'IL-22 dans le cadre du psoriasis

Florence Abdallah<sup>1</sup>, Amandine Suet<sup>1</sup>, Rudy Clemençon<sup>1</sup>, Patrick Baril<sup>1</sup>, Jean-Marc Malinge<sup>1</sup>, Chantal Pichon<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS-UPR4301, 45071 Orléans, France.

<sup>2</sup>Université d'Orléans, Collegium Sciences et Techniques, 45100 Orléans, France.

Le psoriasis est une maladie chronique de la peau causée par une réponse inflammatoire complexe qui nécessite un dialogue entre différents acteurs cellulaires et moléculaires. Bien que la réponse immunitaire psoriasique soit bien décrite, les traitements manquent encore d'efficacité. Il est donc nécessaire d'avoir une compréhension approfondie des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans l'hyperprolifération kératinocytaire induite par l'IL-22. Tout récemment, les microARNs(miR), dont le miR-21, viennent s'ajouter aux médiateurs inflammatoires identifiés dans cette maladie. Le but de notre travail consiste à étudier le rôle de l'IL-22 dans l'expression du miR-21 ainsi que son implication dans la prolifération kératinocytaire lors du psoriasis. Pour la première fois, nos résultats indiquent que le miR-21-3p régule des processus cellulaires tels que l'induction de la survie, la prolifération et la migration cellulaire. D'autre part, nous avons observé sans ambiguïté une corrélation positive entre l'IL-22 et le miR-21-3p dans des modèles de kératinocytes *in vitro* et de modèle murin de psoriasis induit à l'imiquimod *in vivo*. Nos résultats montrent que l'expression du miR-21 stimulée par l'IL-22 est sous la dépendance des facteurs de transcription STAT3 et NF-κB. Cette expression anormale peut être inhibée par des petits acides nucléiques de type siRNA et leur ADN qui sont de potentiels agents thérapeutiques. Nos résultats ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques ciblant la composante génique du psoriasis.

**Mots-clés** : Psoriasis, IL-22, miR-21-3p, STAT3, NF-κB

## Approche écotoxicologique pour résoudre l'énigme de la disparition des butineuses chez l'abeille domestique

Axel Decourtye<sup>1,2,3</sup>, Mickaël Henry<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>ITSAP-Institut de l'abeille, 228 route de l'aérodrome, 84914 Avignon

<sup>2</sup>ACTA, 228 route de l'aérodrome, 84914 Avignon

<sup>3</sup>UMT Prade, 228 route de l'aérodrome, 84914 Avignon

<sup>4</sup>Abeilles et environnement, INRA, 228 route de l'aérodrome, 84914 Avignon

Issue d'observations de terrain, l'hypothèse est posée depuis les années 90 par les apiculteurs que des insecticides appliqués sur les semences de plantes cultivées, et visitées par les abeilles lors de la floraison, peuvent affecter le retour à la ruche des butineuses. Les scientifiques se sont emparés de cette question et ont mis au point des protocoles originaux pour y répondre. Nous avons porté notre effort sur l'enregistrement du vol de retour à la ruche de butineuses marquées avec une micropuce RFID [1]. Grâce à cet aboutissement méthodologique, et à un partenariat pluridisciplinaire, nous avons mené un cheminement scientifique, répondant pas à pas à la controverse [2-4]. Nous avons ainsi démontré en conditions réelles que le butinage sur des fleurs contaminées par de faibles quantités de résidus de pesticides provoque la disparition des butineuses [5]. Ces nouvelles connaissances soulignent l'intérêt d'intégrer la mesure des effets sublétaux dans les procédures réglementaires de mise sur le marché des pesticides [6].

### Références

- [1] Decourtye A., Devillers J., Aupinel P., Brun F., Bagnis C., Fourrier J., Gauthier M., (2011). Honeybee tracking with microchips: a new methodology to measure the effects of pesticides. *Ecotoxicology* 20:429–437.
- [2] Henry M., Beguin M., Requier F., Rollin O., Odoux J.-F., Aupinel P., Aptel J., Tchamitchian S., Decourtye A. (2012). A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees. *Science* 336, 348-350.
- [3] Henry M., Bertrand B., Le Féon V., Requier F., Odoux J.-F., Aupinel P., Bretagnolle V., Decourtye A. (2014) Pesticide risk assessment in free-ranging bees is weather and landscape dependent. *Nature Communications*. DOI: 10.1038/ncomms5359
- [4] Decourtye A. (2018) Vingt ans d'épopée scientifique pour étudier les effets des faibles doses des néonicotinoïdes. Dans *Les abeilles, des ouvrières agricoles à protéger*, A. Decourtye Coord., La France Agricole/ACTA/ITSAP Editions.
- [5] Henry, M., Cerrutti, N., Aupinel, P., Decourtye, A., Gayrard, M., Odoux, J.-F., ... Bretagnolle, V. (2015). Reconciling laboratory and field assessments of neonicotinoid toxicity to honeybees. *Proceedings of the Royal Society B*. doi:10.1098/rspb.2015.2110
- [6] Decourtye A., Henry A., Desneux N. (2013). Overhaul pesticide testing on bees. *Nature*, 497:188.

## **Modulation of FSH receptor- and GPR54 signalling with conjugated nanobodies**

Francesco De Pascali, Mohammed Akli Ayoub, Lucie Pellissier, Yannick Corde, Amandine Vallet, Flavie Landomiel, Nathalie Gallay, Gilles Bruneau, Selva Nataraja, Stephen Palmer, Henry Yu, Romain Yvinec, Nicolas Joubert, Marie-Claude Viaud, Anne Poupon, Pascale Crépieux, Eric Reiter.

UMR85-PRC/BIOS-ER5, INRA CVDL

FSH receptor (FSHR) and Kisspeptin receptor (GPR54) belong to the G-protein coupled receptor superfamily (GPCR) and control reproduction. Upon ligand-induced activation, they trigger either G-dependent or  $\beta$ -arrestin-dependent signalling. Biased agonists modify the balance between those two transduction mechanisms. The aim of this project is to modulate G or  $\beta$ -arrestin contribution at FSHR or GPR54 by using conjugated nanobodies. The idea is to combine a low molecular weight (LMW) drug to the variable fragment of single chain immunoglobulin from camelids. First, we characterized FSHR modulation achieved by using a panel of eight potent LMW allosteric modulators provided by TocopherRx (Boston, USA). We performed dose-responses and kinetics by BRET in living cells. All the compounds activated the receptor but displayed different pharmacological profiles. Among these, we selected one compound as our lead candidate for nanobody-conjugation. We then generated a chemically-modified version of it amenable to conjugation in collaboration with the GICC (University of Tours). In parallel, different nanobodies against FSHR were produced and characterized. In a separate project, we selected a nanobody against GPR54 and characterized its pharmacology. We evaluated GPR54 activation by real time monitoring of calcium mobilization or by measuring IP-1 production by HTRF. The nanobody displayed a robust positive allosteric modulation in the presence of kisspeptin-10. Different versions of kisspeptin-10 grafted with a conjugation head have been synthesized (GICC, Tours) and characterized.

**Mots-clés** : FSHR, GPR54, GPCR, Biased agonism, VHH

## Trafic et devenir intracellulaire de SiRNA nanovectorisés sur un modèle de cancer du sein triple négatif

S. Ben Djemaa<sup>1</sup>, S. David<sup>1</sup>, L. Lefèvre<sup>1</sup>, L. Lajoie<sup>2</sup>, S. Nedellec<sup>3</sup>, S. Galdiero<sup>4</sup>, A. Falanga<sup>4</sup>, K. Hervé-Aubert<sup>1</sup>, I. Chourpa<sup>1</sup>, E. Munnier<sup>1</sup>, E. Allard-Vannier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EA6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Université de Tours – Tours, France

<sup>2</sup> EA7501 Groupe Innovation et Ciblage Cellulaire, Equipe Fc Récepteurs, Anticorps et MicroEnvironnement, Université de Tours – Tours, France

<sup>3</sup> Plateforme microPICell, SFR santé François Bonamy-IRSUN, 8 quai Moncoussu, BP 70721, 44007 Nantes Cedex

<sup>4</sup> Department of Pharmacy, CIRPEB - University of Naples "Federico II", Via Mezzocannone 16, 80134, Napoli, Italy

L'utilisation des petits ARN interférents (siRNA) représente une stratégie innovante pour le traitement des cancers. Les limites de cette approche ont incité les chercheurs à développer différents nanosystèmes pour protéger et délivrer les siRNA. Néanmoins, les mécanismes d'internalisation et le devenir intracellulaire des nanovecteurs de siRNA sont peu étudiés. Dans l'objectif d'améliorer les traitements des cancers du sein triple négatif (CSTN), nous avons développé des nanovecteurs appelés CS-MSN (Cell penetrating peptide (CPP)-Stealth Magnetic SiRNA Nanovectors) basés sur l'utilisation des nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques pégylées, marquées à la sulfocyanine 5 et conjuguées à un CPP, le peptide gH625 (CS-FNP) [1]. Les CS-MSN sont formulés par assemblage électrostatique de CS-FNP, de siRNA et de polymères cationiques que sont le chitosan et la poly-L-arginine. Les CS-MSN obtenus présentent une taille de 180 nm environ et une charge très légèrement positive. Les résultats obtenus montrent une entrée rapide des CS-MSN dans les cellules de CSTN (MDA-MB-231), préférentiellement par une voie d'endocytose. La présence du peptide gH625 en surface augmente la quantité de CS-MSN entrant dans la cellule d'environ 2.5 fois après 4 et 24h de contact avec les cellules. Nous avons confirmé par microscopie confocale et par imagerie en flux, la capacité des siRNA vectorisés à échapper les endosomes, alors que les CS-FNP poursuivent leur trafic des endosomes vers les lysosomes. L'échappement endosomal des siRNA nanovectorisés se traduit par une inhibition de 73% d'une protéine modèle (GFP) [1] et est en cours de validation avec une protéine d'intérêt (BCL-xL).

Réf : [1] Ben Djemaa *et al.* EJPB 131 (2018) 99–108. doi: 10.1016/j.ejpb.2018.07.024

## Réponses adaptatives des semis de peuplier noir face au changement climatique

M. Lefebvre<sup>1</sup>, R. Fichot<sup>2</sup>, P. Rozenberg<sup>1</sup>, M. Pégard<sup>1</sup>, M. Villar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA UMR 0588 INRA-ONF BioForA, Orléans, France ; <sup>2</sup> LBLGC EA 1207 INRA USC 1328, Université d'Orléans, France

Les forêts alluviales sont des écosystèmes en interaction forte avec la morphodynamique du cours d'eau dont elles dépendent. L'augmentation de la température due au changement climatique va affecter la régénération des espèces arborescentes de la ripisylve comme le Peuplier noir (*Populus nigra* L.). Mon étude se focalise sur le stade semis et vise à évaluer la diversité de réponses des semis de peupliers noirs face aux variations environnementales *via* l'étude de caractères fonctionnels supposés adaptatifs de la feuille, de la tige et du système racinaire. La mise en place d'un dispositif original de transplantations réciproques de semis issus de deux origines génétiques, avec contrôle du substrat et de l'irrigation nous a permis de tester l'effet d'un changement climatique sur 20 familles de semis, en passant d'un climat océanique à un climat méditerranéen. Seul les aspects température et intensité lumineuse ont été pris en compte. L'étude multi-traits nous a permis de décomposer la variance phénotypique de chacun des traits étudiés et ainsi mettre en avant les stratégies adaptatives présentes dans nos différentes provenances et familles de semis de peuplier noir. A terme, le but de cette étude sera d'estimer un potentiel adaptatif de l'espèce ou des différentes populations étudiées dans le contexte de changement climatique.

## **ISET® : Nouvelle approche pour le suivi et le diagnostic précoce des cancers invasifs**

Pr. Patrizia Paterlini-Bréchet

Faculté de Médecine, Université Paris Descartes et INSERM

Les patients atteints d'un cancer solide ne meurent pas à cause de la tumeur primitive mais des métastases qui dérivent de la diffusion des Cellules Tumorales Circulantes (CTC). Le développement de métastases est un facteur important du pronostic vital et de la réponse thérapeutique, souvent inefficace à ce stade de la maladie.

La découverte et l'utilisation en oncologie de traitements ciblés et personnalisés peut apporter un réel avantage clinique aux patients avec cancer et faire économiser plusieurs milliards d'euros en dépenses de santé. Les thérapies personnalisées efficaces arrivent sur le marché (cancer du sein, cancer du poumon, cancer colorectal, etc), mais ne peuvent être prescrites qu'après l'identification dans un échantillon tumoral d'un bio-marqueur prédictif de l'efficacité du médicament (non mutation du gène KRAS, mutation du gène BRAF, etc ...). Ces tests ne peuvent être aujourd'hui réalisés que sur un échantillon de tissu tumoral prélevé par des méthodes invasives coûteuses et dangereuses pour le patient. Par ailleurs, les conditions cliniques de certains patients ne leur permettent pas de subir une intervention chirurgicale ou une biopsie pour obtenir du tissu tumoral ; ces patients sont ainsi exclus d'une prise en charge thérapeutique ciblée. Dans ce contexte, l'analyse moléculaire des CTC représente une vraie avancée en termes économiques et de santé publique.

Depuis sa publication en 2000 dans la revue *American Journal of Pathology*, plus de 80 articles ont été publiés utilisant la technologie ISET®. La technologie ISET® a été validée cliniquement et reconnue pour sa sensibilité et sa spécificité inégalée à ce jour. Elle permet d'isoler les cellules tumorales circulantes présentes dans le sang des malades dès les premiers stades d'un cancer invasif, avant l'apparition de métastase.

Lors de son intervention le Pr. Paterlini-Bréchet présentera les dernières avancées relatives à l'utilisation de la technologie ISET® pour la détection précoce des cancers invasifs, un pas en avant vers une médecine prédictive et personnalisée et non invasive.

## Valorisation cosmétique d'extraits de bois de robinier

### «ValRob»-Projet d'intérêt régional 2012-2016

Christian Breton<sup>1</sup>, Valerie Serrano<sup>2</sup>, Jean-Marc Seigneret<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UMR BioForA, INRA-ONF, INRA Val de Loire, 45075 Orléans

<sup>2</sup> Alban Müller International, 2800 Fontenay-sur-Eure

Le robinier (*Robinia pseudoacacia*) est une espèce de légumineuse originaire du continent nord-américain très fréquemment retrouvée sur nos territoires. Son bois, caractérisé par une importante proportion de bois de coeur ou duramen, présente une durabilité naturelle exceptionnelle pour une essence poussant en zone tempérée. A ce jour et de ce fait, son bois est principalement utilisé en tant que bois de chauffage ou piquets.

Biochimiquement, le duramen du robinier s'avère aussi être caractérisé par une importante fluorescence jaune dont l'apparition marque cette dernière étape de différenciation des cellules du bois. Potentiellement utilisable comme colorants, les extractibles du bois de robinier ont tout d'abord été caractérisés au niveau du laboratoire. Puis, du fait de la mise en évidence d'autres activités biologiques, un transfert des protocoles d'extraction a été envisagé et mis en place.

Dans cet exposé, nous présenterons une partie des résultats obtenus au cours du projet ValRob (AAP d'Intérêt Régional 2012-2016) en insistant plus particulièrement sur les perspectives d'utilisation des extraits de bois de robinier en cosmétique.

#### Références

- Destandau, E., Charpentier, J.-P., Bostyn, S., Zubrzycki, S., Serrano, V., Seigneuret, J.-M., **Breton, C.** (2016). Gram-Scale Purification of Dihydrorobinetin from *Robinia pseudoacacia* L. Wood by Centrifugal Partition Chromatography. **Separations**, 3 (3), 12 p. DOI : 10.3390/separations3030023

- Optimization and kinetic modelling of robinetin and dihydrorobinetin extraction from *Robinia pseudoacacia* wood (sous presse). Bostyn S., Destandau E., Charpentier J-P, Serrano V., Seigneuret J-M, Breton C. **Industrial Crops and Products**.

## Nouvelles approches pharmacologiques pour soulager les troubles autistiques dans des modèles précliniques de la pathologie

Jérôme A.J. Becker et Julie Le Merrer

Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA UMR-0085, CNRS UMR-7247, IFCE, Université de Tours, Inserm, Nouzilly

Le récepteur mGlu4 appartient à la large famille des récepteurs métabotropiques au glutamate (mGlu). Les récepteurs mGlu sont impliqués dans le contrôle et la modulation de nombreuses fonctions cérébrales et ont reçu une attention considérable comme cibles potentielles pour soulager de nombreuses pathologies du système nerveux central. Parmi eux, le récepteur mGlu4 a été proposé comme cible pour le traitement de la maladie de Parkinson, mais aussi de la douleur chronique, de l'anxiété, des troubles obsessionnels compulsifs, de la dépression, et, plus récemment, et sur la base de nos travaux, de l'autisme. Nous avons effectivement montré, chez les souris n'exprimant pas le récepteur mu aux opioïdes (*Oprm1<sup>-/-</sup>*), un modèle murin d'autisme caractérisé par une altération du système de récompense, qu'un traitement chronique avec une molécule capable de faciliter l'activité des récepteurs mGlu4, un modulateur allostérique positif de ces récepteurs, le VU0155041, pouvait soulager les symptômes autistiques chez ces animaux (Becker et al. 2014). Ce traitement a permis, de manière remarquable, de normaliser le comportement social, les comportements stéréotypés et le niveau d'anxiété des souris *Oprm1<sup>-/-</sup>*. Nous avons depuis étendu cette observation à d'autres modèles: aux animaux *Fmr1* knockout, un modèle murin du syndrome de X Fragile, chez lesquels l'administration de VU0155041 est significativement plus efficace qu'un traitement avec un modulateur allostérique négatif des récepteurs mGlu5 (GRN-529) pour soulager les symptômes autistiques, et chez des souris précédemment exposées à la morphine, qui présentent des déficits comportementaux évoquant un syndrome autistique (Becker et al. 2017). Dans leur ensemble, nos travaux confirment le rôle clé joué par les récepteurs mGlu4 dans le contrôle de la sociabilité chez la souris et leur intérêt comme cible thérapeutique pour traiter les pathologies dans lesquelles celle-ci est compromise.

## Nouveaux ciments à base de phosphates de calcium, pour la chirurgie de reconstruction osseuse

Bruno Bujoli

Laboratoire CEISAM, UMR 6230 CNRS / Université de Nantes. bruno.bujoli@univ-nantes.fr

Depuis 15 ans, nous concevons des biomatériaux innovants permettant une néoformation osseuse dans des environnements biologiques peu favorables (ostéoporose, grandes pertes de substance, tumeurs osseuses, infections...). Nous avons développé différentes générations de technologies combinant un ciment à base de phosphate de calcium (CPC) avec différents principes actifs d'intérêt biologique, pour l'obtention de biomatériaux injectables, résorbables et implantables par chirurgie mini-invasive, dans le but de cibler différentes pathologies osseuses.

Nous avons ainsi mis au point et optimisé toute une série de ciments injectables, et pour illustrer notre démarche, deux exemples représentatifs seront discutés. Ceux-ci concernent deux formulations de CPC combinés respectivement avec : (1) Un *médicament générique inhibiteur de la résorption osseuse* de la classe des bisphosphonates (alendronate), pour la prévention de la fracture ostéoporotique (col du fémur, vertèbres, poignet). Une formulation originale a été développée permettant un relargage contrôlé du médicament et une recapitalisation osseuse sur le site implanté ; (2) Du *sang autologue* pour le remplissage de cages de fusion intervertébrale. Sur un modèle préclinique de fusion intervertébrale, une formulation a conduit à des résultats biologiques exceptionnels, avec systématiquement une fusion observée contrairement au cas du ciment « témoin ». De plus, les résultats sont même meilleurs que ceux obtenus avec le « gold standard », à savoir le remplissage des cages par de l'autogreffe osseuse.

## Régulation du canal SK3 par les éther-lipides endogènes dans des cellules de cancer du sein

D. Fontaine<sup>1</sup>, S. Figiel<sup>1</sup>, C. Goupille<sup>1</sup>, I. Domingo<sup>1</sup>, M. Pinault<sup>1</sup>, C. Guimaraes<sup>1</sup>, A.-M. Bouchet<sup>1</sup>, N. Guyon<sup>2</sup>, P.-F. Cartron<sup>2</sup>, L. Ouldamer<sup>1</sup>, K. Maheo<sup>1</sup>, G. Fromont<sup>1</sup>, M. Potier-Cartreau<sup>1</sup>, P. Besson<sup>1</sup>, P. Bognoux<sup>1</sup>, A. Chantôme<sup>1\*</sup>, C. Vandier<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>INSERM UMR 1069 « Nutrition, Croissance et Cancer » - Tours - \* : les auteurs ont contribué de façon équivalente, <sup>2</sup>CRCINA-INSERM 1232, Equipe « Apoptose et Progression tumorale » - Nantes

Les éther-lipides (EL) sont des lipides qui possèdent une longue chaîne d'alcool gras liée au glycérol par une liaison éther. Parmi ces lipides, nous avons identifié une nouvelle famille d'EL de synthèse pouvant prévenir le développement de métastases en modifiant l'activité des complexes canaux SK3-Orai1 et régulant la signalisation calcique et la migration de cellules cancéreuses (Chantôme *et al.*, 2013). Dans les tumeurs, les EL endogènes sont retrouvés en plus grande quantité que dans les tissus non tumoraux (Snyder & Wood, 1969) et une étude récente a démontré l'implication de l'AlkylGlycerone Phosphate Synthase (AGPS), l'enzyme clé de la synthèse des EL endogènes, dans la migration des cellules cancéreuses (Benjamin *et al.*, 2013). L'objectif de ce travail a été de déterminer si les EL endogènes peuvent moduler l'expression et les fonctions biologiques du canal SK3, retrouvé anormalement exprimé dans des cellules épithéliales cancéreuses de sein. Ces travaux ont été réalisés sur une lignée de cancer du sein, les MDA-MB-435s.

Nous avons tout d'abord utilisé un siRNA dirigé contre l'AGPS. Dans un second temps, nous avons testé l'effet d'un sérum dépourvu de lipides (dont les EL) sur la quantité d'EL membranaires et les possibles effets sur SK3. Nos résultats montrent que l'extinction de l'AGPS entraîne une diminution de 70% des EL membranaires, ainsi que la diminution de l'entrée calcique et de la migration cellulaire dépendantes de SK3. L'extinction de l'AGPS entraîne également une diminution des ARNm codant pour SK3 reliée à une augmentation transitoire du miR-499, décrit comme ciblant les transcrits SK3 (Ling *et al.*, 2013). De façon intéressante, nous avons retrouvé une corrélation positive entre l'expression de l'AGPS et celle du canal SK3 dans des tumeurs humaines de sein. Par ailleurs, nous avons montré que le sérum dépourvu de lipides entraîne une augmentation des EL membranaires, de l'entrée calcique et de la migration dépendantes de SK3. Ces données montrent pour la première fois que les EL endogènes régulent l'expression du canal SK3 et son rôle biologique dans des cellules de cancer du sein.

**Mots-clés** : cancer du sein, éther-lipides, canal SK3, signalisation calcique

## L'invasine Rck de *Salmonella* Typhimurium module le cycle cellulaire de l'hôte pour faciliter l'infection

Julien Mambu<sup>1</sup>, Guillaume Sadrin<sup>1</sup>, Emilie Barilleau<sup>1</sup>, Michel Olivier<sup>1</sup>, Yves Le Vern<sup>1</sup>, Olivier Grépinet<sup>1</sup>,  
Alessandra Nicolosi<sup>1</sup>, Sonia Lacroix-Lamandé<sup>1</sup>, Laetitia Fragnet-Trapp<sup>1</sup>, Philippe Velge<sup>1</sup>,  
Agnès Wiedemann<sup>1</sup>

<sup>1</sup>-ISP, INRA, Université François Rabelais de Tours, UMR 1282, 37380, Nouzilly, France

L'entéropathogène *Salmonella* Typhimurium a été mis en cause dans la dérégulation la prolifération cellulaire au niveau de l'intestin après infection, mais le mécanisme mis en jeu reste peu connu. *Salmonella* Typhimurium, exprime à sa surface une invasine (Rck), qui interagit et active le récepteur de l'EGF (Epidermal Growth Factor), à la surface de la cellule cible, conduisant à l'internalisation de la bactérie. Sachant que l'activation du récepteur de EGF régule également la prolifération-différenciation cellulaire, notre étude s'est intéressée à l'impact de l'interaction entre Rck et le récepteur de l'EGF sur la prolifération de cellules épithéliales intestinales et son implication dans la pathogenèse.

En utilisant une lignée épithéliale intestinale, nous avons démontré par cytométrie en flux, que l'interaction entre Rck et le récepteur de l'EGF manipule la prolifération cellulaire en augmentant le nombre de cellules infectées en phase S du cycle cellulaire, phase de réplication de l'ADN. Cette modulation du cycle pourrait être expliquée par l'apparition de dommages à l'ADN, que nous avons observés dans les cellules infectées. En synchronisant les cellules dans les différentes phases du cycle cellulaire et en réalisant des expériences de réinfection, nous avons démontré que l'interaction entre Rck et son récepteur manipule le cycle cellulaire de la cellule hôte afin de favoriser l'internalisation d'autres bactéries exprimant Rck. L'utilisation d'organoïdes intestinaux murins a permis de mettre en évidence que l'infection induite par Rck envoie le même signal de prolifération-différenciation cellulaire que l'EGF dans un modèle épithélium intestinal, suggérant ainsi que Rck est un agoniste de l'EGFR.

L'ensemble de ces résultats démontre l'implication de Rck dans la modulation de la prolifération cellulaire lors d'infection par *Salmonella* Typhimurium. Ceci suggère un nouveau mécanisme utilisé par *Salmonella* pour détourner les mécanismes cellulaires de l'hôte afin de créer un environnement favorable pour la colonisation intestinale.

**Mots clés** : *Salmonella*, cycle cellulaire, prolifération, invasion

## D'un réseau de fragments 3D à la conception de nouveaux inhibiteurs de kinases

Colin Bournez, Pascal Krezel, José-Manuel Gally, Mohsine Driowya, Samia Aci-Sèche, Gérald Guillaumet, Pascal Bonnet

Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA UMR7311) - Université d'Orléans - Pôle de chimie  
rue de Chartres - BP 6759 - 45067 Orléans Cedex 2

Durant ces vingt dernières années une nouvelle technique pour concevoir des médicaments s'est révélée très fructueuse : l'approche par fragments, plus connue sous le nom de Fragment-Based Drug Design (FBDD). Un fragment est un composé de faible poids moléculaire (~ 300 Da), présentant peu de complexité moléculaire. Les fragments se lient à leur protéine cible avec une affinité moindre que les ligands de référence mais, dû à leur petite taille, ils forment des interactions plus efficaces. A partir de cette observation, il existe plusieurs méthodes pour les optimiser : par ajout d'autres fragments (méthode dite de « growing »), par liaison ou superposition avec d'autres fragments liés ailleurs dans le site actif (« linking » ou « merging »). Nous présentons ici une méthode innovante de FBDD *in silico* : Frags2Drugs (F2D), un programme créé dans le but de concevoir des nouveaux inhibiteurs de kinases directement dans le site actif de la protéine cible. Cet outil repose sur une librairie interne de fragments 3D enregistrée sous forme de graphe permettant l'usage de technologies récentes et proche de celles utilisées par les réseaux sociaux. Cela permet à F2D de donner des résultats rapidement pour une cible donnée à partir d'un fragment initial choisi par le chimiste médicinal. Les résultats très prometteurs de nouvelles molécules découvertes, synthétisées puis testées expérimentalement ainsi que les applications du programme seront aussi présentées pour 3 projets en oncologie.

## **MABSilico: *in silico* methods for antibody development**

A. Musnier<sup>a</sup>, T. Bourquard<sup>a</sup>, V. Puard<sup>a</sup>, A. Vallet<sup>b</sup>, S. Tahir<sup>b</sup>, G. Bruneau<sup>b</sup>, T. Boulo<sup>b</sup>, N. Langonné<sup>b</sup>, M.A. Ayoub<sup>b</sup>, Y. Jullian<sup>c</sup>, H. Watier<sup>d</sup>, P. Crépieux<sup>b</sup>, E. Reiter<sup>b</sup>, A. Poupon<sup>a,b</sup>

a. MABSilico SAS, Plateforme Zénoé, Centre de Recherches Val de Loire, 37380 Nouzilly, France

b. PRC, INRA, CNRS, Université François Rabelais-Tours, 37380, Nouzilly, France

c. CaSciModOT, UFR de Sciences et Techniques, Université François-Rabelais, F-37041 Tours, France

d. CNRS; 16 Université François-Rabelais de Tours; CHRU de Tours, UMR 7292, 37032 Tours, France

MABSilico develops *in silico* methods to help antibody (Ab) early development. Three methods are already available: MABTope<sup>1</sup> for epitope determination, MABCross<sup>2</sup> to identify secondary targets for a query Ab and forecast its cross-reactions, and MABSubstitute<sup>2</sup> to increase the Ab diversity for the antigen (Ag). Our predictive methods can be coupled to experimental validations.

MABTope<sup>1</sup> is based on a protein-protein docking method. On our internal benchmark, MABTope<sup>TM</sup> correctly predicted the epitope in all cases<sup>1</sup>. As a comparison, other existing epitope prediction methods (Cluspro, Frodock, Epipred and PPIP) predicted the correct complexes of our benchmark in 59, 60, 50 and 70 % of the cases, respectively. The method has been used to determine the epitope of Eculizumab on the C5-complement protein<sup>3</sup>, and the epitopes Golimumab and Certolizumab on the TNF $\alpha$ <sup>1</sup>.

MABCross<sup>2</sup> and MABSubstitute<sup>2</sup> rely on an original and patented distance measure between the CDRs (complemental determining regions) of Abs aiming at evaluating the similarity between a query Ab and the 400,000 Ab in our database. We first postulate that if two Ab look alike, the ones retrieved from the database can be used to target the antigen of the query Ab. This is MABSubstitute which is dedicated at increasing the Ab diversity for a given epitope. The second postulate is that the query Ab is going to bind the targets of the retrieved Ab. This is MABCross which aims at predicting the off-targets of an Ab and hence forecast its cross-reactions at early stages.

<sup>1</sup> Bourquard, Musnier et al, J Immunol, in press, <sup>2</sup> Patent n°1660940, <sup>3</sup> Brachet et al., 2016, Mol Immunol

## **Je ne suis pas d'humeur ! Effet de l'hormone juvénile sur le statut reproducteur et l'agressivité chez les femelles d'une guêpe parasitoïde**

Anthony G.E. Mathiron<sup>1</sup>, Ryan L. Earley<sup>2</sup> & Marlène Goubault<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IRBI, UMR 7261 CNRS - Université de Tours, Parc Grandmont, 37200 Tours, France

<sup>2</sup>Department of Biological Sciences, The University of Alabama, 300 Hackberry Lane, Tuscaloosa, AL 35487, USA

Il est aujourd'hui bien connu que la testostérone est impliquée dans le développement des gonades mâles chez les vertébrés. De plus, l'hypothèse du « challenge » propose que l'augmentation des comportements agressifs associés à la reproduction des mâles est corrélée à des taux élevés en testostérone. Chez les insectes, c'est l'hormone juvénile (JH) qui régule le développement ovarien des femelles et peut jouer un rôle dans l'apparition et le maintien de comportements agressifs lors de compétition entre femelles. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'effet d'une augmentation artificielle du taux de JH sur le statut reproducteur et les conflits entre femelles chez une guêpe parasitoïde solitaire, *Eupelmus vuilleti*, lorsqu'elles se battent pour exploiter un hôte: une larve de *Callosobruchus maculatus*. Nous avons montré qu'une injection de JH augmentait le nombre d'œufs matures des femelles après 24h. Nous avons également montré que les guêpes étaient plus agressives durant les combats lorsqu'elles avaient plus d'œufs matures (prêts à être pondus), et que cet effet était plus important lorsque les femelles avaient été injectées avec de la JH avant les combats. La JH semble donc augmenter l'agressivité des guêpes lorsqu'elles se battent pour pondre leurs œufs, ce qui suggère que l'hypothèse du challenge peut être appliquée aux insectes.

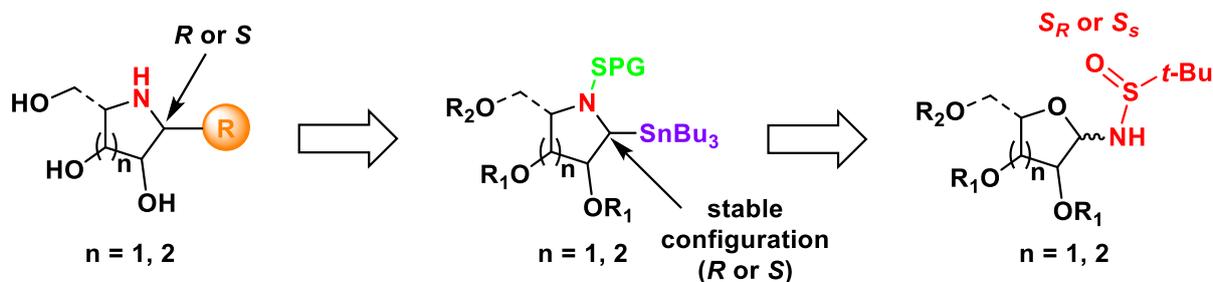
## Tunable approach to the synthesis of iminosugar-C-glycosides through the application of the Stille cross-coupling

Justyna A. Jaszczyk<sup>1</sup>, Sizhe Li<sup>1</sup>, Cyril Nicolas<sup>1</sup>, Olivier Martin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ICOA, UMR 7311, Université d'Orléans, France

Iminosugars are small molecules based on polyhydroxylated pyrrolidines and piperidines that act by inhibition of glycosidases or glycosyltransferases. The ability of these iminosugars to function as inhibitors of those enzymes is generally attributed to their capability in mimicking the oxonium ion intermediate which participates in both enzymatic reactions. Iminosugars have shown remarkable potential as therapeutics toward cancer as well as viral and bacterial infections and are used for the treatment of type 2 diabetes.

Based on our ongoing research program directed towards the development of original and straightforward syntheses of iminosugar-C-glycosides, we would like to report an innovative synthetic methodology regarding the asymmetric Stille cross-coupling reaction of configurationally stable iminosugar-1-tributylstannanes and halogenated reagents. This is the first example of a stable C1-metallated iminosugar intermediate to react in a transition-metal catalyzed reaction and the second case of a methodology to prepare iminosugar-C-glycosides in a tunable and predictable manner.



**Figure 1:** Retrosynthetic scheme iminosugar-C-glycosides through Stille cross-coupling

**Mots-clés :** iminosugar-C-glycosides, Stille cross-coupling, transition-metal catalysis, organic synthesis

## Perception émotionnelle et sensorielle et symptômes dépressifs, quels liens ?

Rochet Marion<sup>1,2</sup> ; El-Hage Wissam<sup>1,3</sup>, Dreyfuss Lise<sup>2,4</sup>, Atanasova Boriana<sup>1,2</sup> .

<sup>1</sup> : UMR, iBrain, Université de Tours, Inserm, 37200 Tours

<sup>2</sup> : UFR Sciences et techniques, Université de Tours, 37200 Tours

<sup>3</sup> : CHRU de Tours, Clinique Psychiatrique Universitaire, 37000 Tours

<sup>4</sup> : BIOFORTIS Sensory & Consumer, 44800 Saint Herblain

L'état affectif, notamment la dépression, impacte directement l'individu au niveau physiologique, émotionnel et comportemental. Cette étude pilote a pour but de mettre en évidence l'influence de l'état affectif de l'individu sur ses perceptions sensorielles et émotionnelles. Soixante sujets (18 hommes) ont été inclus dans l'étude (moyenne d'âge = 32,3 ± 18). L'évaluation de l'état affectifs (auto-questionnaire sur les symptômes de la dépression, QIDS) des sujets a permis de les répartir en deux groupes : un groupe témoin (TEM ; n=32 ; 17 hommes ; moyenne d'âge = 34 ± 11) et un groupe présentant des symptômes dépressifs mineurs (DLM ; n=28 ; 6 hommes ; moyenne d'âge : 33 ± 11,2). Tous les participants ont été évalués quant à leur niveau d'anxiété (échelle d'anxiété, STAI), de plaisir (échelle SHAPS) et d'alexithymie (TAS-20). Pour étudier l'impact de l'état affectif du sujet sur la perception émotionnelle, 3 stimuli ont été utilisés : 2 odeurs alimentaires (fraise et ail) et une madeleine (stimulus multi-sensoriel). Les sujets ont ainsi évalué, pour chaque stimulus, les émotions et les traits de personnalité qu'ils ont ressenti lors de la perception, en utilisant une méthode innovante de mesure des émotions : la méthode Sense'n Feel™ (Biofortis). Cette méthode non-verbale permet d'éviter certains biais retrouvés dans d'autres méthodes, notamment le biais de désirabilité sociale. Les résultats obtenus vont dans le sens de l'hypothèse de départ pour 2 produits sur les 3 sélectionnés. En effet, pour la madeleine, les résultats ont montré une différence significative pour l'émotion Joie/Gaieté (p=0,002) et l'émotion « Attendrissement » (p=0,011) ainsi que pour les traits de personnalités « Magique » (p<0,001) et Raffiné (p<0,007) entre les groupes DLM et TEM dans le sens d'une réaction affective moindre pour le groupe DLM. Des résultats allant dans le même sens ont été également retrouvés pour l'odeur de fraise (« Joie/gaieté », p<0.001 ; « Magique », p<0,001 ; « Chaleureux/Joyeux », p<0,001 et « Apaisant/Calme », p<0,001). Nous n'avons pas obtenu de différences significatives pour l'odeur d'ail. De plus, nos résultats ont mis en avant que le groupe DLM présentait des scores d'alexithymie significativement plus élevé que ceux du groupe TEM (p<0.001).

Cette étude pilote a permis de montrer que l'état affectif d'un sujet et plus particulièrement la présence de symptômes dépressifs mineurs peut diminuer la perception émotionnelle positive des stimuli sensoriels. Ces résultats méritent d'être validés sur une population de personnes dépressives avec plusieurs autres stimuli sensoriels. Ils pourraient par la suite être utilisés pour expliquer, en partie, les troubles alimentaires fréquemment observés dans les pathologies affectives, et pourront aider à l'amélioration de la qualité de vie des patients.

**Influences de l'hybridation entre le cerf sika et élaphe (*C.n.nippon* x *C.e.scoticus*) sur l'endocrinologie de la gestation et la mise en place de la relation mère-jeune**  
**« »-Projet d'intérêt régional 20-20**

Locatelli Y.<sup>1</sup>, Gélin U.<sup>2</sup>, De Beaupuis V.<sup>1</sup>, Vion C.<sup>1</sup>, Nowak R.<sup>2</sup>, Lévy F.<sup>2</sup>, Keller M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Réserve Zoologique de la Haute Touche, Muséum National d'Histoire Naturelle, Obterre, France

<sup>2</sup> Physiologie de la Reproduction & des Comportements, INRA, CNRS, Université de Tours, IFCE, Nouzilly, France.

L'introduction d'espèces allochtones constitue aujourd'hui une menace majeure pour la biodiversité. Chez les cervidés, l'introduction du cerf sika du Japon (*Cervus nippon nippon*) au Royaume-Uni au cours du XIX<sup>ème</sup> siècle a conduit à une forte introgression de l'espèce allochtone (sika) chez l'espèce autochtone (cerf élaphe, *Cervus elaphus scoticus*) par hybridation. En effet, bien que le sika et l'élaphe soient deux espèces distinctes, leur hybridation permet l'obtention de descendants fertiles. Par ailleurs, les données génétiques sur les populations écossaises montrent que si cette hybridation est un événement rare, elle peut engendrer des conséquences importantes sur la génétique de la population native. En France, diverses populations de cerfs Sika recensées dans les régions Centre/Val-de-Loire, Bourgogne-Franche Comté, Normandie, Ile-de-France ou l'Aquitaine, menacent également les populations autochtones. Dans ce contexte, nous avons cherché à déterminer s'il existait des facteurs limitants à l'hybridation entre les deux espèces (croisement sika x élaphe) en précisant ses conséquences sur la physiologie de la gestation (dynamique des sécrétions endocriniennes), la mise en place de la relation comportementale entre la mère et son jeune mais également sur le phénotype et la croissance des jeunes hybrides en comparaison des modèles homospécifiques (sika et élaphe). Nos différentes études nous ont permis d'établir les profils de sécrétion d'hormones clés (maintien de la gestation, mise en place de la parturition et de la lactation) dans les groupes homospécifiques et dans le contexte d'hybridation. Si quelques différences ont été observées, la modification de la génétique de l'unité foeto-placentaire par hybridation ne modifie pas l'endocrinologie, n'affecte pas les chances de succès du développement fœtal (production d'individus viables) mais diminue significativement la durée de la gestation. Par ailleurs, nous avons pu confirmer la bonne adaptation entre réponse maternelle et comportement du jeune dans le contexte d'hybridation par rapport aux espèces «parentes». En effet, des femelles élaphe donnant naissance à un jeune hybride montrent un pattern comportemental similaire à celui-exprimé vis-à-vis d'un jeune élaphe. De même, le comportement du faon hybride est lui aussi proche de celui d'un faon élaphe, permettant une bonne interaction avec la mère. Aussi, après une gestation plus courte, les jeunes hybrides montrent de la vigueur dans la période péripartum et bénéficient des soins maternels, permettant un bon développement jusqu'au sevrage.

## **Systèmes d'expression « cell-free » : de nouvelles possibilités pour la production de protéines**

Sandra Cortès, Amandine Vallet, Mélanie Arboléas, Bruno Tillier

Société Synthelis, 5 avenue du Grand Sablon 38700 Grenoble, FRANCE

La synthèse de protéines par l'utilisation de systèmes de transcription-traduction acellulaires (« cell-free systems ») a démontré ces dernières années ses performances pour satisfaire une demande croissante de production rapide et diverse de protéines de qualité. Ces systèmes sont utilisés depuis les années 60 comme un outil de recherche fondamentale pour la compréhension des mécanismes de la transcription et de la traduction. Des progrès récents ont rendu possible leur utilisation pour la production de protéines à des coûts compétitifs aussi bien à petite échelle qu'à échelle industrielle. Les rendements d'expression avec certains de ces systèmes peuvent aujourd'hui dépasser les grammes de protéines par litre de réaction et ce en quelques heures. Aujourd'hui, des volumes réactionnels de 200 litres sont mis en œuvre pour la production de lots GMP de protéines d'intérêt thérapeutique. Les nombreux progrès sur ces systèmes ont permis d'envisager de nouvelles applications comme la synthèse de banques de protéines pour les études de protéomique fonctionnelle, des marquages et synthèses de protéines complexes pour la biologie structurale, des applications en biologie synthétique, le développement de biomédicaments originaux, ou l'expression de particules de type virus, entre autres exemples. Dans les années à venir, on peut donc prévoir que l'expression de protéines par « cell-free » prenne sa place parmi les procédés industriels en offrant des délais courts de production et un large éventail de possibles en termes de modifications, d'innovation et de réalisations à façon. La synthèse des protéines par technologie « cell-free » vient donc compléter avantageusement les systèmes cellulaires classiques afin de rendre possible la production d'une plus large gamme de protéines d'intérêt. Nous serons ravis de répondre à toutes vos questions sur ces technologies d'expression cell-free et leurs utilisations possibles.

## **Imagerie par spectrométrie de masse en science des plantes et des aliments : une perspective en 3D**

Hélène Rogniaux

INRA, UR1268 Biopolymères Interactions Assemblages – F-44316 NANTES

Depuis quelques années, la spectrométrie de masse peut être employée en mode « imagerie », permettant de collecter, en chaque point d'une coupe de tissu, l'information sur la masse des espèces chimiques présentes. Une image est alors reconstituée, montrant la distribution des molécules dans le tissu à l'échelle de la dizaine de micromètres. L'intérêt est que cette méthode ne nécessite pas l'utilisation de sondes et qu'elle peut adresser, théoriquement, toutes les catégories de biomolécules accessibles à l'analyse en spectrométrie de masse (lipides, métabolites, peptides et protéines, glycanes). Dans notre équipe, nous employons la méthode pour étudier les structures polysaccharidiques constitutives des architectures pariétales des plantes ainsi que leur évolution spatiale ou temporelle. L'objectif est de mieux comprendre comment ces architectures influencent les propriétés ou fonctionnalités des plantes, lorsqu'elles sont utilisées comme matière première pour l'alimentation ou en tant que bioressource en chimie verte. L'originalité de notre travail est d'associer à l'imagerie par spectrométrie de masse une dégradation enzymatique localisée des biopolymères ciblés. L'approche tire ainsi profit à la fois de la spécificité des enzymes et de l'information structurale fournie par la spectrométrie de masse. Deux exemples seront présentés : sur le blé, en lien avec la qualité du grain pour l'industrie céréalière, et sur le maïs, en lien avec l'exploitation des tiges en bioraffinerie.

# Posters

## ***Filière A***

### **PA1- Analyse protéomique des couches interne et externe de la membrane vitelline de l'œuf de poule (*Gallus gallus*)**

Mégane BREGEON, Valérie LABAS, Sophie REHAULT-GODBERT, Nicolas GUYOT

### **PA2- Etude des formes clivées de la protéine TDP-43 dans l'aggrégation protéique et la mort motoneuronale dans la sclérose latérale amyotrophique**

Anna Chamj, Rudolf Hergesheimer, Tristan Mangeat, Philippe Corcia, Christian Andres, Pierre Martineau, Hélène Blasco, Patrick Vourc'h

### **PA3- Cathepsine V et mucopolysaccharidoses: un "mauvais" GAG ?**

Thibault Chazeirat, Sergey Samsonov, François Labarthe, Marine Tardieu, Sophie Denamur, Florient Mallèvre, Thierry Livache, Ahlame Saïdi, Fuming Zhang, Robert Lindhart, Dieter Brömme, Gilles Lalmanach, Fabien Lecaille

### **PA4- Identification of a second isoform of tabersonine 16-O-methyltransferase expressed in flowers of *Catharanthus roseus***

Pamela Cruz, Ines Carqueijeiro, Thomas Dugé de Bernonville, Konstantinos Koudounas, Maria Isabel Restrepo, Sébastien Besseau, Nathalie Giglioli-Guivarc'h, Marc Clastre, Vincent Courdavault

### **PA5- Effets des acides gras polyinsaturés sur la signalisation calcique impliquée dans la transition épithelio-mésenchymateuse dans le cancer de la prostate**

Sandy FIGIEL, Fanny BERRY, Aurélie CHANTOME, Delphine FONTAINE, Côme PASQUALIN, Véronique MAUPOIL, Isabelle DOMINGO, Roseline GUIBON, Franck BRUYERE, Marie POTIER-CARTEREAU<sup>1</sup>, Christophe VANDIER, Gaëlle FROMONT et Karine MAHEO

### **PA6- Activation de la migration des cellules cancéreuses mammaires par le peptide LL-37 : Interaction membranaire et implication de la glycosylation**

Chahrazed Habes, Caroline Goupille, Audrey Gambade, Laurie Lajoie, Marie Potier-Cartereau, Stéphan Chevalier, Christophe Vandier, Günther Weber

### **PA7- Analyse fonctionnelle de variants génétiques du gène PTCHD1 associés à la déficience intellectuelle et à l'autisme**

HALEWA Judith, UNG-LEGRAND Dévina, MAROUILLAT Sylviane, LAUMONNIER Frédéric

### **PA8- The interaction between the ORAI3 Calcium Channel and STIM2 contributes to Prostate Cancer Cell proliferation and survival**

S. Kouba, P. Buscaglia, M. Guéguinou, R. Félix, S. Ibrahim, R. Guibon, G. Fromont, A. Chantôme, T. Capiod, C. Vandier, M. Potier-Cartereau and O. Mignen

### **PA9- Rôle de la protéine SETMAR dans les glioblastomes et cellules souches de glioblastomes**

O. LIÉ, I. ZEMMOURA, C. AUGÉ-GOUILLOU

**PA10- « Coupable par association » Construction et analyse de réseaux de co-expression pour l'élucidation de voies cellulaires**

F. Liesecke, J.O. de Craene, V. Courdavault, M. Clastre, G. Glévarec, S. Besseau, N. Giglioli-Guivarc'h, O. Pichon, T. Dugé de Bernonville

**PA11- Consequences of cathepsin C inactivation for membrane exposure of proteinase 3, the target antigen in autoimmune vasculitis**

Seren S., Dallet-Choisy S, Gauthier F, Marchand-Adam S, Korkmaz B

**PA12- Rôle de la prénylation de protéine dans la maturation des graines et la biosynthèse des acides gras chez Arabidopsis thaliana**

V. Vergès, C. Conart, M. Pinault, C. Guimaraes, S. Chevalier, N. Giglioli-Guivarc'h, C. Dutilleul, E. Ducos

***Filière B***

**PB13- Characterization of the cellular determinants involved in Marek Disease Virus shedding**

Aurélien Chuard, Caroline Denesvre, David Padeloup

**PB14- Développement d'une culture cellulaire originale pour l'étude de la physiopathologie de l'infection par le virus de l'hépatite C**

Jade Cochard, Anne Bull, Jean-Christophe Meunier, Philippe Chouteau

**PB15- Régulation des fonctions de neutrophiles au cours de l'infection grippale**

Florent CREUSAT, Youenn JOUAN, Thomas BARANEK, Mustapha SI-TAHAR and Christophe PAGET

**PB16- Localisation de l'interaction entre Gag du VIH-1 et l'ARN viral : Utilisation combinée de la microscopie confocale et électronique**

Stéphanie Durand, Florian Seigneuret, Julien Gaillard, Philippe Roingeard et Hugues de Rocquigny

**PB17- Caractérisation d'un opéron de Streptococcus agalactiae codant un ABC transporteur de polyamines**

Sarah Khazaal, Aurélie Hiron, Rim Al Safadi et Philippe Gilot

**PB18- Complementary roles of the S and L envelope proteins in the capsid recruitment and the HBV budding**

Florentin Pastor, Hugues de Rocquigny, Romuald Patient, Julien Gaillard, Florian Seigneuret, Charline Herrscher, Philippe Roingeard and Christophe Hourieux

**PB19- Etude fonctionnelle du système CRISPR-Cas de type II-A de Streptococcus agalactiae**

Pastuszka A, Camiade E, Rousseau GM, Moineau S, Mereghetti L, Lanotte P

**PB20- Functional impact of A-prophage with Streptococcus agalactiae adaptation facing Lactobacillus from the vaginal flora**

Adélaïde Renard, Pauline Cantin, Sandra Dos Santos Borges, Marion Lacasse, Anne-Sophie Valentin, Laurent Mereghetti, Roland Quentin, Nathalie van der Mee-Marquet

**PB21- Love them all ! No kin discrimination during maternal egg care in the European earwig *Forficula auricularia***

Sophie Van Meyel, Séverine Devers, Joël Meunier

**PB22- Structures et fonctions de la protéine NS1 des virus influenza pour la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques**

Alan WACQUIEZ, Stéphane GOFFINONT, Virginie NADAN, Franck COSTE, Emmanuel KUT, Bertrand CASTAING et Daniel MARC

***Filière C***

**PC23- Development of chemo-enzymatic methodologies for the total synthesis of proteins through solid-supported chemical ligation**

Skander Abboud, Véronique Piller, Sébastien Papot, Agnès F. Delmas, Vincent Aucagne.

**PC24- La neurofibromine une nouvelle cible de SUMO impliquée dans la maladie NF1**

Mohammed Bergoug, Aurélie Cosson, Michel Doudeau, Fabienne Godin, Béatrice Vallée et Hélène Bénédetti

**PC25- Quantification des retours de nutriments via la lixiviation : étude expérimentale de quatre essences feuillues**

Bessaad Abdelwahab, Mazzola Jean-Mary, Cotel Loïc, Bilger Isabelle, Korboulevsky Nathalie

**PC26- Straightforward synthesis of biorelevant tetrahydro-[1,6]-naphthyridines**

Floris BUTTARD, Clément BERTHONNEAU, Marie-Aude HIEBEL, Jean-François BRIERE, and Franck SUZENET

**PC27- Recherche d'inhibiteurs des enzymes de réparation de l'ADN hNEIL1 et hOGG1, de nouvelles cibles pertinentes pour le développement de thérapies anticancéreuses**

Julien CROS, Franck COSTE, Stéphane GOFFINONT, Virginie NADAN, Vincent ROY, Luigi AGROFOGLIO, Bertrand CASTAING

**PC28- Imagerie ATR-FTIR : caractérisation du bois à l'échelle de la paroi végétale**

Clément Cuello, Paul Marchand, Françoise Laurans, Camille Grand-Perret, Véronique Lainé-Prade, Gilles Pilate, Annabelle Déjardin

**PC29- Serotonin 5-HT7 receptor: characterization of new potent ligands with therapeutical properties**

Chayma El Khamlichi, Flora Reverchon, Elodie Robin, Nicolas Chopin, Emmanuel Deau, Andrzej Bojarski, Gérald Guillaume, Franck Suzenet, Eric Reiter, Séverine Morisset-Lopez

**PC30- Transfert de gènes par vecteurs synthétiques : optimisation du transport intracellulaire et de la délivrance de l'ADN plasmidique au noyau**

Caroline Girardin, Delphine Maze, Cristine Gonçalves, Chantal Pichon and Patrick Midoux

**PC31- Mise en place d'une plateforme de criblage bioluminescente, microARNs spécifique, pour l'identification de nouvelles structures bioactives d'intérêt biologique et cosmétique**

Elodie Henriet, Yoan Laurent, Chantal Pichon, Patrick Baril

**PC32- Synthèse d'inhibiteurs de Mur-Ligases à visée anti-bactérienne**

V. Hervin, C. Hoarau, D. Warsycki, A. Bojarski, U. Bajpai, V. Roy, L. Agrofoglio

**PC33- Modulation des effets de la nicotine et de la clothianidine (néonicotinoïdes) par les voies de régulations PKC via des récepteurs nicotiniques neuronaux d'insecte résistants à l' $\alpha$ -bungarotoxine**

Jean-Noël HOUCHAT et Steeve THANY

**PC34- To a complete kinetics and structural description of the ECHU chain exchange system**

Justine LARGILLIERE, Rémy LE MEUR, David GUINGUENE, Norbert GARNIER, Céline LANDON, Agnès F. DELMAS, Martine CADENE, Bertrand CASTAING, Karine LOTH

**PC35- Projet Influx : modélisation, application et transposition d'un procédé de flux continu vers l'industrie**

Mazarine Laurent, Aziza Chairat, Stéphane Bostyn, Sylvain Routier, Frédéric Buron

**PC36- Diabetes Imaging by visualizing Amylin with Metal-based Probes**

Saida Majdoub, Jean-François Morfin , Célia Bonnet, Eva Jakab Tóth

**PC37- Systèmes pyrazoliques 5:5 fusionnés : des motifs originaux pour des visées thérapeutiques et pour le développement de charpentes fluorescentes**

Nicu-Cosmin OSTACHE, Marie-Aude HIEBEL, Adriana-Luminița FÎNARU, Gérald GUILLAUMET, Franck SUZENET

**PC38- Design of furanoside-specific neolectins: bioengineering, imaging and diagnosis**

Mateja Senicar, Pierre Lafite, Svetlana V. Eliseeva, Stéphane Petoud, Richard Daniellou

**PC39- Synthèses de spirocycles originaux pour la conception potentielle de nouveaux ligands pour les récepteurs sigma-1**

Kossi Efouako SOKLOU, Hamid MARZAG, Karen PLE, Sylvain ROUTIER

**PC40- Segmentation automatique du joint articulaire pour le diagnostic de la gonarthrose**

Nourhene SOULI, Eric LESPESSAILLES , Rachid JENNANE

**PC41- Influenza A derived NS1 protein promotes BMP-2 expression for bone regeneration**

Pinpin Wang, Federico Perche, Lucie Pigeon, Cristine Goncalves, Delphine Logeart, Hervé Petite, Chantal Pichon

***Filière D***

**PD42- Expression de différentes adipocytokines dans les tissus adipeux et ovariens chez la truie : mise en évidence de l'adipoline et de la vaspine**

Alix Barbe, Patrycja Kurowsk, Agnieszka Rak, Christelle Ramé, Pascal Froment , Joëlle Dupont

**PD43- Effets d'extraits de pépins de raisins sur les paramètres métaboliques et reproductifs chez la poule reproductrice de souche chair**

Alix Barbe, Christelle Ramé, Namya Mellouk, Christophe Staub, Eric Venturi, Angélique Petit, Karine Anger, Marine Chahnamian, Christophe Rat, Joël Delaveau, Pascal Froment , Joëlle Dupont

**PD44- Lipids metabolism in small and large antral ovarian follicles**

Priscila BERTEVELLO, Ana-Paula TEIXEIRA-GOMES, Virginie MAILLARD, Marie-Claire BLACHE, Sebastien ELIS, Valérie LABAS, and Svetlana UZBEKOVA

**PD45- Expression des adipokines dans le liquide séminal de sujets à poids normal**

Bongrani A, Elfassy Y , Brun JS, Ramé C, Mellouk N, Berthaut I, Fellahi S, Bastard JP, Levy R, Vasseur C, Froment P et Dupont J

**PD46- Expression ovarienne des adipokines dans le syndrome des ovaires polykystiques : caractérisation du profil ECHO**

Bongrani A, Mellouk N, Ramé C, Cornuau M, Guerif F, Froment P et Dupont J

**PD47- Mesure du développement du poulet de chair parental par des techniques d'imagerie non invasives**

Jérémy Grandhayé, François Lecompte, Christophe Staub, Eric Venturi, Ingrid Plotton, Estelle Cailleau-Audouin, Patrice Ganier, Christelle Ramé, Joëlle Dupont, Pascal Froment.

**PD48- AdipoRon, un agoniste mimétique de l'adiponectine, réduit la prolifération des cellules de granulosa**

Sandy Hmadeh, Jérémy Grandhayé, Charlène Rouillon, Sarah Chaussard, Joëlle Dupont, Pascal Froment

**PD49- Définition des cibles chromosomiques de PGBD5 dans les neurones pyramidaux du système nerveux central des vertébrés**

Laura Helou, Linda Beauclair, Florian Guillou, Benoît Piégu et Yves Bigot

**PD50- Microphysique de l'olfaction antennaire chez le papillon Samia cynthia**

Mourad Jaffar-Bandjee, Thomas Steinman, Gijs Krijnen, Jérôme Casas

**PD51- Vaspin (VASP) expression is in vitro regulated by several factors in porcine ovarian follicles**

Patrycja Kurowska, Alix Barbeb, Justyna Chmielińskaa, Joëlle Dupontb, Agnieszka Raka

**PD52- Rôle du gène BCAR4 dans la fertilité femelle : expression et approche fonctionnelle in vivo chez le lapin**

Maud Peyny, Peggy Jarrier-Gaillard, Véronique Cadoret, Laurent Boulanger, Nathalie Daniel, Véronique Duranthon, Sebastien Lavillatte & Rozenn Dalbies-Tran

**PD53- Impact de la sélection d'un comportement de peur sur l'anatomie de l'encéphale de caille. Utilisation de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) ex vivo**

Marine Siwiaszczyk, Raïssa Yebga Hot, Cyril Poupon, Ludovic Calandreau, Baptiste Mulet, Scott Love, Elodie Chaillou

***Filière E***

**PE54- Concentration-effect relationships of therapeutic monoclonal antibody rituximab in rheumatoid arthritis**

Amina Bensalem, Denis Mulleman, Gilles Thibault, Nicolas Azzopardi, Gilles Paintaud, Philippe Goupille, David Ternant

**PE55- Analyses qualitatives et quantitatives de solutions thérapeutiques par spectroscopies infrarouge et Raman**

Alaa A. Makki, Franck Bonnier, Renaud Respaud, Ali Tfayli, Elhadi Mohammed, Igor Chourpa

**PE56- Optimisation de la formulation d'anticorps monoclonaux pour la nébulisation**

Alexie Mayor, Béatrice Thibert, Renaud Respaud, Sylvain Huille, Héloïse Audat, Nathalie Heuzé-Vourc'h

**PE57- Synthesis and structure-activity relationships of new Pim-1 kinase inhibitors derived from a new quinoxaline scaffold**

Bruno OYALLON, Marie Brachet-Botineau, Cédric Logé, Pascal Bonnet, Mohamed Souab, Thomas Robert, Sandrine Ruchaud, Stéphane Bach, Pascal Berthelot, Fabrice Gouilleux, Marie-Claude Viaud-Massuard, Caroline Denevault-Sabourin

**PE58- Synthesis and biological evaluation of inhibitors targeting STAT5 proteins in myeloid leukemias**

Marion Polomski, Marie Brachet-Botineau, Ludovic Juen, Christophe Marot, Fabrice Gouilleux, Marie-Claude Viaud-Massuard, Gildas Prié

***Posters de participants hors filière***

**P59- Comparative transcriptome analysis unveils the adaptation mechanisms of *Scenedosporium apiospermum* to the microenvironment of cystic fibrosis lung**

Patrick Vandeputte, Thomas Dugé de Bernonville, Yohann Le Govic, Amandine Gastebois, Solène Le Gal, Sandrine Giraud, Gilles Nevez, Nicolas Papon, Jean-Philippe Bouchara

**P60- PHARMALAB : Promouvoir la Recherche dans les études pharmaceutiques**

BURGAUD Adèle, LEON Sacha, BION Clement, TIREAU Emilie, LAMBERIOUX Morgan, NTOBE Beni, AVRY Francois : VP, MOUILLE Maxence

**P61- Frags2Drugs, un outil in silico novateur de conception d'inhibiteurs basé sur les fragments**

Peyrat, G, Bournez, C, Gally, J-M., Krezel, P, Aci-sèche, S, Bonnet, P

# ***POSTERS***

## **Analyse protéomique des couches interne et externe de la membrane vitelline de l'œuf de poule (*Gallus gallus*)**

Mégane BREGEON, Valérie LABAS, Sophie REHAULT-GODBERT, Nicolas GUYOT

Equipe Défenses de l'œuf, Valorisation, Evolution (DOVE), Boa, INRA, Université de Tours, 37380 Nouzilly, France

La membrane vitelline (MV) de l'œuf de poule, située à l'interface entre le blanc et le jaune, est constituée de deux couches de protéines : la couche interne en contact avec le jaune, synthétisée dans l'ovaire au cours de la folliculogénèse, et la couche externe en contact avec le blanc, sécrétée dans l'oviducte après l'ovulation du follicule mature. La MV a un rôle majeur dans la fécondation, l'embryogénèse et la protection de l'embryon. Près de 140 protéines différentes composent la MV, cependant la répartition de ces protéines dans les 2 couches de la membrane et leur(s) rôle(s) physiologique(s) respectifs restent pour la plupart inconnus. L'objectif de cette étude est donc d'identifier, inventorier et comparer les protéines des deux couches de la membrane vitelline afin de mieux comprendre la structure de cette membrane et préciser les fonctions biologiques associées. Ce travail a nécessité dans un premier temps la mise au point de la séparation des membranes vitellines interne et externe et des conditions d'extraction des protéines de ces dernières pour l'analyse par SDS-PAGE et par spectrométrie de masse. Les premiers résultats montrent que les profils protéiques des deux couches de la membrane vitelline sont très différents. L'analyse protéomique des deux membranes par spectrométrie de masse (en cours) sera complétée par une annotation fonctionnelle des protéines. Ces données permettront d'établir une liste de gènes candidats dont l'expression dans différents tissus reproducteurs de la poule pondeuse sera étudiée par RT-qPCR, afin de préciser la spécificité et lieu de synthèse de ces protéines.

**Mots-clés** : *Gallus gallus*, œuf, membrane vitelline, analyse protéomique

## Etude des formes clivées de la protéine TDP-43 dans l'agrégation protéique et la mort motoneuronale dans la sclérose latérale amyotrophique

Anna Chami<sup>1</sup>, Rudolf Hergesheimer<sup>1</sup>, Tristan Mangeat<sup>4</sup>, Philippe Corcia<sup>1,3</sup>, Christian Andres<sup>1,2</sup>, Pierre Martineau<sup>4</sup>, Hélène Blasco<sup>1,2</sup>, Patrick Vourc'h<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>UMR 1253, iBRAIN, Université de Tours, INSERM, Tours, France.

<sup>2</sup>CHU de Tours, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Tours, France.

<sup>3</sup>CHU de Tours, Service de Neurologie, Tours, France.

<sup>4</sup>IRCM, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, Montpellier, France; INSERM, U896.

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une pathologie neurodégénérative de l'adulte qui se caractérise par la perte progressive et irréversible des motoneurones corticaux et spinaux. La formation d'agrégats protéiques riches en protéine TDP-43 dans ces motoneurones participe aux mécanismes physiopathologiques de la maladie. Physiologiquement présente dans le noyau des cellules, la protéine TDP-43 est dans la SLA délocalisée dans le cytoplasme où elle forme des agrégats insolubles. Le programme Intrabals, dans lequel s'inscrit la présente étude, a pour objectif de réduire l'agrégation de TDP-43 à des fins thérapeutiques dans la SLA (ARD2020 Biomédicaments Région Centre Val-de-Loire ; soutenu par le Labex MabiImprove)

Des études post-mortem chez des patients SLA ont montré que TDP-43 est présente sous sa forme native (sauvage, 414 aa) mais également sous des formes clivées. Les produits de clivage semblent impliqués dans la formation d'agrégats et ils augmenteraient la cytotoxicité. Les propriétés biochimiques ainsi que les conséquences fonctionnelles de ces fragments restent mal connues. Nous avons donc produit ces formes clivées de TDP-43 (14 fragments) par ingénierie moléculaire et les étudions actuellement *in vitro* dans des neurones corticaux de souris, afin de mieux comprendre leur rôle potentiel dans la SLA. Notre objectif est d'identifier des intracops (anticorps intracellulaires) capables d'inhiber l'agrégation protéique de TDP-43 native mais aussi de ses formes clivées potentiellement toxiques. Nous réalisons actuellement un criblage d'une banque d'intracops contre TDP-43 en collaboration avec le laboratoire du Dr. Martineau à l'Institut de Recherche sur le Cancer de Montpellier. Nous étudierons les effets de ces intracops sélectionnés sur l'agrégation protéiques et la toxicité de TDP-43 et de ses formes clivées.

L'ensemble de ces travaux permettront de mieux comprendre le rôle des formes clivées de TDP-43 dans la SLA et d'identifier des intracops ouvrant de nouvelles pistes thérapeutiques.

**Mots clés** : Sclérose Latérale Amyotrophique, TDP-43, fragments, agrégats, intracops

## Cathepsine V et mucopolysaccharidoses: un "mauvais" GAG ?

Thibault Chazeirat<sup>a</sup>, Sergey Samsonov<sup>b</sup>, François Labarthe<sup>c</sup>, Marine Tardieu<sup>c</sup>, Sophie Denamur<sup>c</sup>, Florient Mallèvre<sup>d</sup>, Thierry Livache<sup>d</sup>, Ahlame Saïdi<sup>a</sup>, Fuming Zhang<sup>e</sup>, Robert Lindhart<sup>e</sup>, Dieter Brömme<sup>f</sup>, Gilles Lalmanach<sup>a</sup>, Fabien Lecaille<sup>a</sup>

<sup>a</sup>INSERM, UMR 1100, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Equipe "Mécanismes protéolytiques dans l'inflammation", Université François Rabelais, Tours, France. <sup>b</sup>Department of Theoretical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Gdansk, Poland. <sup>c</sup>Médecine Pédiatrique, Hôpital Clocheville, CHRU Tours, France. <sup>d</sup>Chimie de la Reconnaissance et Etudes des Assemblages Biologiques, UMR SPrAM 5819, Institut Nanosciences et Cryogénie, Grenoble, France. <sup>e</sup>Biocatalysis and Metabolic Engineering Rensselaer Polytechnic Institute Biotech, NY, USA. <sup>f</sup>Department of Oral Biological and Medical Sciences, University of British Columbia, Vancouver, British Columbia, Canada.

Les mucopolysaccharidoses sont un groupe de maladies génétiques humaines rares du métabolisme, dues à des mutations des gènes codant pour les enzymes impliquées dans le catabolisme lysosomal des différents glycosaminoglycanes (GAGs) (ou mucopolysaccharides). Ce défaut enzymatique se traduit par une accumulation importante intracellulaire de GAGs partiellement dégradés. Il s'agit d'une pathologie chronique évolutive, multiorganes avec de graves problèmes cardio-respiratoires induisant une faible espérance de vie. Les cathepsines à cystéine sont des protéases lysosomales qui tiennent une place importante dans la dégradation/recyclage des protéines internalisées et qui jouent également un rôle essentiel dans le remodelage de la matrice extracellulaire. Parmi elles, la cathepsine V (Cat V) est la protéase humaine possédant la plus forte activité élastinolytique. D'autre part, il a été montré que certains GAGs inhibent à de fortes concentrations les activités collagénolytiques et élastinolytiques d'autres cathepsines apparentées. Nous avons pu mettre en évidence (Western-blot, ELISA) la présence de la cat V et de GAGs sulfatés dans des expectorations de patients MPS (N=14). Le principal GAG (héparane sulfate: HS) accumulé en forte quantité et commun à plusieurs types de patients MPS (I-III) inhibe spécifiquement l'activité de la cat V. L'interaction entre HS (sous différentes formes: structures simples, longue chaîne linéaire, protéoglycane) et Cat V et le mode d'inhibition ont été caractérisés (cinétique enzymatique, surface plasmonique de résonance par imagerie, modélisation moléculaire) et nous avons identifié un antagoniste rétablissant l'activité *in vitro* de la cat V en présence de fortes concentrations en HS.

## **Identification of a second isoform of tabersonine 16-O-methyltransferase expressed in flowers of *Catharanthus roseus*.**

Pamela Cruz, Ines Carqueijeiro, Thomas Dugé de Bernonville, Konstantinos Koudounas, Maria Isabel Restrepo, Sébastien Besseau, Nathalie Giglioli-Guivarc'h, Marc Clastre, Vincent Courdavault<sup>#</sup>

Université de Tours, EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales, 31 avenue Monge, 37200 Tours  
<sup>#</sup>[vincent.courdavault@univ-tours.fr](mailto:vincent.courdavault@univ-tours.fr)

*Catharanthus roseus* is a well-known medicinal plant producing monoterpene indole alkaloids (MIAs) of high pharmaceutical interest such as the anticancer vincristine. MIAs are synthesized through a complex biosynthetic pathway exhibiting a sophisticated organization *in planta*. Besides showing a multi- and intra-cellular distribution of MIA biosynthetic enzymes, the presence of organ-dedicated isoforms of MIA genes adds another layer level of complexity to the architecture of the pathway, as recently exemplified with the identification of two copies of tabersonine 16-hydroxylase (T16H) that initiated the tabersonine-to-vindoline transformation in an organ dependent manner. In the present work, through transcriptomics analyses combined to gene co-expression and homology-based studies, we identified a candidate gene that may encode a second isoform of the second enzyme from this pathway, namely tabersonine 16-O-methyltransferase (16OMT1). After cloning its coding sequence in an expression vector, activity was screened by co-expression with T16H in yeast followed by a UPLC-MS analysis of the reaction product. Comparison with a 16-methoxytabersonine standard generated by coexpressing T16H with 16OMT1 confirmed identification of this second 16OMT isoform that we named 16OMT2. Interestingly, while we demonstrated that 16OMT2 was specific of 16-hydroxytabersonine by testing other substrates, we saw that the intrinsic activity of 16OMT2 was always lower than that of 16OMT1. Since 16OMT1 operates as dimers, both 16OMT1 and 16OMT2 were co-expressed with T16H to determine whether heterodimer formation could affect protein activity but no modification were monitored. Finally, while 16OMT2 exhibits 84% of identity with 16OMT1, a careful examination of its primary sequence revealed the presence of residues shared with flavonoid O-methyltransferase that may explain its lower activity and illustrate the evolutionary process leading to the development of the MIA biosynthetic pathway.

## Effets des acides gras polyinsaturés sur la signalisation calcique impliquée dans la transition épithelio-mésenchymateuse dans le cancer de la prostate

Sandy FIGIEL<sup>1</sup>, Fanny BERRY<sup>1</sup>, Aurélie CHANTOME<sup>1</sup>, Delphine FONTAINE<sup>1</sup>, Côme PASQUALIN<sup>2</sup>, Véronique MAUPOIL<sup>2</sup>, Isabelle DOMINGO<sup>1</sup>, Roseline GUIBON<sup>1,3</sup>, Franck BRUYERE<sup>3</sup>, Marie POTIER-CARTEREAU<sup>1</sup>, Christophe VANDIER<sup>1</sup>, Gaëlle FROMONT<sup>1,3\*</sup> et Karine MAHEO<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Inserm U1069, « Nutrition, Croissance et Cancer », Tours ; <sup>2</sup> ERL CNRS 7003- EA 7349-Signalisation et transports ioniques membranaires (STIM), Tours <sup>3</sup>CHRU Bretonneau, Départements de Pathologie et d'Urologie, Tours(\*contribution équivalente)

La progression tumorale est liée au phénomène de transition épithelio-mésenchymateuse (TEM), pendant lequel les cellules cancéreuses perdent leurs propriétés adhésives et gagnent des propriétés migratrices et protéolytiques nécessaires à la formation de métastases. La TEM est induite par différents facteurs du microenvironnement (TGF $\beta$ , hypoxie..) qui vont activer des facteurs de transcription, dont Zeb1. Nous avons mis en évidence une augmentation de l'expression de Zeb1 avec les stades de progression du cancer de la prostate (CaP) (*Figiel et al, 2017*). Notre précédente étude a retrouvé une corrélation négative entre l'agressivité du CaP chez l'homme et un taux élevé dans le tissu adipeux périprostatique de certains acides gras (AG), l'acide linoléique (AL) et l'acide eicosapentaénoïque (EPA) (*Figiel et al, 2018*).

Nous avons analysé l'effet de ces AG sur le processus de TEM en ciblant notamment le facteur de transcription Zeb1 fortement impliqué dans la migration des cellules cancéreuses prostatiques. Nous avons pu démontrer que l'incorporation de l'AL et de l'EPA dans la membrane plasmique inhibe la migration cellulaire ainsi que l'expression de Zeb1 induite par le TGF $\beta$  et l'hypoxie, *in vitro* et sur des explants de CaP humains. Des études récentes ont suggérées un rôle clé du calcium dans les événements précoces de la TEM, et notre équipe a montré que l'association de canaux calciques et potassiques (SK3) est impliquée dans la migration, l'invasion et la formation de métastases. Nous avons mis en évidence une co-régulation de l'expression de Zeb1 et de SK3 dans les cellules cancéreuses prostatiques. Nous avons également démontré que l'expression de Zeb1 induite par le TGF $\beta$  et l'hypoxie est dépendante d'une entrée calcique, qui est régulée par l'AL et l'EPA.

**Mots-clés** : cancer de la prostate, acide linoléique, acide eicosapentaénoïque, Zeb1, calcium

## Activation de la migration des cellules cancéreuses mammaires par le peptide LL-37 : Interaction membranaire et implication de la glycosylation

Chahrazed Habes<sup>1</sup>, Caroline Goupille<sup>1,2</sup>, Audrey Gambade<sup>1</sup>, Laurie Lajoie<sup>3</sup>, Marie Potier-Cartereau<sup>1</sup>, Stéphane Chevalier<sup>1</sup>, Christophe Vandier<sup>1</sup>, Günther Weber<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INSERM UMR 1069, Nutrition, Croissance et Cancer, Université de Tours, France

<sup>2</sup> CHRU Hôpital Bretonneau, Tours F-37200, France

<sup>3</sup> CNRS, Centre National de la Recherche Scientifique - CHRU de Tours - Université François Rabelais (Tours) - Unité Mixte de Recherche 7292, Tours, France.

LL-37, peptide antimicrobien, est associé au développement tumoral. Sur des lignées tumorales mammaires, il augmente le calcium intracellulaire et la migration. Ses activités dépendent de sa fixation orientée sur des micro-domaines membranaires (cavéoles et pseudopodes). Cette fixation à la membrane entraîne une diminution de la fluidité membranaire, l'activation de la voie PI3K/AKT, recrutement membranaire de canaux mécanosensibles TRPV2 et un influx calcique par ce canal dans les structures cellulaires associées à la migration. L'utilisation de l'énantiomère (D) LL-37 induit les mêmes effets, ce qui exclue une interaction classique de type ligand-récepteur et de nouveaux mécanismes d'action restent à définir. Avec sa structure en hélice  $\alpha$  amphipathique et sa charge nette +6, l'hypothèse est que le peptide utilise les charges négatives de glycanes sulfatés ou sialylés pour sa fixation membranaire avant de s'enchâsser dans la membrane. Afin de démontrer l'implication de ces glycanes chargés, des lectines bloquant l'accès par encombrement aux acides sialiques, ou des enzymes permettant de retirer certains sucres (sialidases et héparinase) ont été utilisées. Puis la fixation du peptide à la membrane cellulaire a été évaluée (microscopie et cytométrie) ainsi que l'efficacité du peptide LL-37 sur l'induction de la migration cellulaire ou l'induction du signal calcique. En comparant la structure de LL-37 à d'autres peptides antimicrobiens (amphipathie et charge nette), les activités ont été comparées à celles de LL-37.

**Mots clés** : LL-37, Cellules cancéreuses, Calcium, Migration, glycanes chargés, Acides sialiques.

## **Analyse fonctionnelle de variants génétiques du gène *PTCHD1* associés à la déficience intellectuelle et à l'autisme**

HALEWA Judith (1), UNG-LEGRAND Dévina (1), MAROUILLAT Sylviane (1), LAUMONNIER Frédéric(1,2)

(1) UMR1253, iBrain, University of Tours, Inserm, Tours, France

(2) Service de Génétique, CHRU de Tours, Tours, France

L'autisme et la déficience intellectuelle (DI) caractérisent des troubles neuro-développementaux avec une composante génétique significative impliquant au moins 1% de la population générale. L'identification de mutations dans le gène *PTCHD1* (situé sur le chromosome X) chez des patients atteints d'autisme et/ou de DI nous a amené à étudier son implication dans le neuro-développement. L'analyse génétique de nouveaux patients a mis en évidence 3 mutations faux-sens (Pro32Arg, Pro32Leu, Tyr213Cys) localisées dans le 1<sup>er</sup> domaine transmembranaire (Pro32) ou dans la 1<sup>ère</sup> boucle extracellulaire (Tyr213). La surexpression des formes mutées de *PTCHD1* dans des lignées cellulaires HEK293 et dans des cultures primaires neuronales a permis la mise en évidence d'un défaut d'expression protéique et de localisation membranaire, suggérant un impact délétère.

Par ailleurs, la protéine *PTCHD1* a révélé être un récepteur membranaire post-synaptique contribuant au fonctionnement des synapses glutamatergiques, interagissant avec les protéines-clefs de l'échafaudage post-synaptique PSD95 et DLG3 (Ung et al., 2018). Dans l'objectif de caractériser en détail la voie de signalisation, une étude de l'interactome de *PTCHD1* en cours a mis en évidence une association nouvelle avec la protéine Rac1, qui participe à la régulation de l'organisation du cytosquelette d'actine.

Ces résultats soulignent le rôle majeur de *PTCHD1* dans le développement du cerveau et permettent de fournir des éléments décrivant une nouvelle voie physiologique au sein de la synapse glutamatergique.

## The interaction between the ORAI3 Calcium Channel and STIM2 contributes to Prostate Cancer Cell proliferation and survival

S. Kouba<sup>1\*</sup>, P. Buscaglia<sup>2\*</sup>, M. Guéguinou<sup>3</sup>, R. Félix<sup>1</sup>, S. Ibrahim<sup>3</sup>, R. Guibon<sup>1</sup>, G. Fromont<sup>1</sup>, A. Chantôme<sup>1</sup>, T. Capiod<sup>4</sup>, C. Vandier<sup>1</sup>, M. Potier-Cartereau<sup>1+</sup> and O. Mignen<sup>2+</sup>

1. Inserm U1069 Nutrition Croissance et Cancer (N2C), Faculté de Médecine de l'Université de Tours, Tours, France

2. Inserm U1227, Lymphocytes et Autoimmunité (LBAI), Université de Bretagne Occidentale, Brest, France

3. UMR 7292 Groupe Innovation et Ciblage Cellulaire (GICC), Faculté de Médecine de l'Université de Tours, Tours, France

4. Inserm U1151, Institut Necker Enfants Malades (INEM), Faculté de Médecine Paris Descartes 75993 Paris, France

\* Both authors contributed equally to this work

+ Authors equally supervised the research study.

The intracellular calcium cation ( $\text{Ca}^{2+}$ ) plays a critical role as a second messenger to regulate gene transcription, cell cycle progression, proliferation and death. In prostate cancer (PCa),  $\text{Ca}^{2+}$  signaling is altered contributing to tumor growth; therefore, targeting  $\text{Ca}^{2+}$  ion channels in PCa has become of great interest for researchers to develop novel therapeutic approaches. Among these channels, studies have focused on the ORAIs channels involved in store dependent (SOCE) and independent  $\text{Ca}^{2+}$  entries (SICE) and their regulators STIM1/STIM2 (STromal Interaction Molecules) to better understand their implication in PCa. Our recent work (unpublished data) has shown that ORAI3 and STIM2 are highly expressed in a Knock-in PCa mouse model (KIMAP), and immunohistochemistry experiments, performed on human PCa tissues, showed similar results. We therefore investigated whether there is a possible interaction between ORAI3 and STIM2 and hence, a related  $\text{Ca}^{2+}$  entry involved in the proliferation of PCa cells. *In vitro*, Co-IP experiments in PC3 cancer cells demonstrated an interaction between ORAI3 and STIM2. Knocking-down STIM2 expression decreased PC3 cell viability and proliferation, as well as the amplitude of Orai3/STIM2-associated  $\text{Ca}^{2+}$  entry, but had no effect on SOCE. Reducing Orai3 expression also decreased the viability and proliferation of PC3 cells but dramatically increased SOCE. No significant effect of STIM2 Knock-down was observed on the cell cycle; however, the downregulation of ORAI3 induced an important arrest at the G2/M phase. Western blots analysis demonstrated a disruption of the CDK1/Cyclin1 complex that regulates the G2/M transition. Our hypothesis is that the interaction between ORAI3 and STIM2 may occur to prevent the entry of  $\text{Ca}^{2+}$  via SOCE and thus, avoid cell death, leading PCa cells to survive.

**Keywords:** Prostate cancer, ORAI calcium channels, STIM, cell cycle, CDK1/CyclinB1, survival

## Rôle de la protéine SETMAR dans les glioblastomes et cellules souches de glioblastomes

O. LIÉ<sup>1</sup>, I. ZEMMOURA<sup>1</sup>, C. AUGÉ-GOUILLOU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INSERM U1253 – CHRU Bretonneau - Tours, FRANCE

Les glioblastomes sont les gliomes les plus fréquents chez l'adulte et leur incidence augmente de 3% par an. Malheureusement, la survie moyenne d'un patient traité n'est aujourd'hui que de 14 mois. Cette courte survie s'explique par deux facteurs : la haute résistance de ces tumeurs aux traitements actuels et leur grande hétérogénéité, à la fois d'un patient à l'autre et au sein d'une même tumeur.

Notre équipe a montré dans des travaux précédents que la protéine SETMAR est surexprimée dans les glioblastomes. Une isoforme plus courte de SETMAR, jusqu'alors inconnue, y a également été mise en évidence. SETMAR est impliquée dans de nombreuses activités biologiques telles que la réplication et la réparation de l'ADN et la structure de la chromatine. Par ailleurs son rôle dans la résistance des cellules aux thérapies ionisantes a été documentés dans certains cancers (leucémies, cancers du sein). Nos travaux montrent que l'expression de SETMAR évolue au cours de la biogénèse des glioblastomes, c'est sur ce thème qu'est centré une partie de mon projet de thèse.

Afin de sonder le rôle de SETMAR dans l'oncogénèse gliale, j'ai analysé les taux d'expression des deux isoformes de la protéine dans les trois zones macroscopiques de glioblastomes issus de patients opérés au CHU de Tours par le Dr. Zemmoura. Mes premiers résultats mettent en évidence que la protéine SETMAR dans ses deux isoformes est de plus en plus présente en s'enfonçant au cœur de la tumeur. Ces résultats suggèrent un rôle précoce de SETMAR dans l'oncogénèse gliale.

Dans la continuité de ce travail et pour établir une corrélation entre les niveaux d'expression de SETMAR et la réponse aux traitements oncologiques, je commence l'analyse des taux de protéine dans les glioblastomes d'une cohorte de patients aux profils de réponse au traitement différents. Ces résultats, complétés par des analyses cellulaires, permettront de définir si SETMAR est un marqueur pronostique et/ou diagnostique du glioblastome.

**Mots-clés** : glioblastomes, SETMAR

## « Coupable par association » Construction et analyse de réseaux de co-expression pour l'élucidation de voies cellulaires

F. Liesecke J.O. de Craene V.Courdavault, M. Clastre, G. Glévarec, S. Besseau, N. Giglioli-Guivarc'h  
O. Pichon, T. Dugé de Bernonville

E.A. 2106 - BBV , Université de Tours

Avec l'essor des technologies transcriptomiques à haut débit comme le microarray et le RNAseq, une quantité colossale de données d'expression de gènes s'est accumulée au cours des dernières décennies. Ce travail illustre la réutilisation et le traitement de ces larges données pour la construction de réseaux ciblés de co-expression de gènes. L'analyse approfondie de tels réseaux permet de mettre en évidence des acteurs inconnus au sein de voies cellulaires (métaboliques ou de signalisation). L'objectif de ce travail a été de fournir une méthodologie complète aux biologistes afin de les guider dans l'élaboration d'études de co-expression. En effet, cette procédure se révèle délicate par plusieurs aspects comme notamment la quantité et la diversité des données utilisées, le choix de la méthode de calcul de co-expression entre gènes ainsi que la validation *in silico* des résultats du réseau. Ces différents paramètres ont été comparés sur des données à grande échelle afin d'optimiser la méthodologie de construction de réseaux. Nous avons élaboré des réseaux ciblés sur la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes et la voie de signalisation des cytokinines à partir de données librement accessibles chez les végétaux, fournissant des exemples biologiques concrets illustrant la pertinence de notre approche.

**Mots-clés** : Réseau de co-expression, transcriptomique, voies métaboliques, voies de signalisation, données à grande échelle, bio-informatique.

## **Consequences of cathepsin C inactivation for membrane exposure of proteinase 3, the target antigen in autoimmune vasculitis**

Seren S<sup>1</sup>, Dallet-Choisy S<sup>1</sup>, Gauthier F<sup>1</sup>, Marchand-Adam S<sup>1</sup>, Korkmaz B<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INSERM U-1100, "Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires" and Université de Tours, 37000 Tours, France.

Membrane-bound proteinase 3 (PR3<sup>m</sup>) is the main target antigen of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in granulomatosis with polyangiitis, a systemic small-vessel vasculitis. Binding of ANCA to PR3<sup>m</sup> triggers neutrophil activation with the secretion of enzymatically active PR3 and related neutrophil serine proteases, thereby contributing to vascular damage. PR3 and related proteases are activated from pro-forms by the lysosomal cysteine protease cathepsin C (CatC) during neutrophil maturation. We hypothesized that pharmacological inhibition of CatC provides an effective measure to reduce PR3<sup>m</sup> and therefore has implications as a novel therapeutic approach in granulomatosis with polyangiitis. We first studied neutrophilic PR3 from 24 patients with Papillon-Lefèvre syndrome (PLS), a genetic form of CatC deficiency. PLS neutrophil lysates showed a largely reduced but still detectable (0.5-4%) PR3 activity when compared with healthy control cells. Despite extremely low levels of cellular PR3, the amount of constitutive PR3<sup>m</sup> expressed on the surface of quiescent neutrophils and the typical bimodal membrane distribution pattern were similar to what was observed in healthy neutrophils. However, following cell activation, there was no significant increase in the total amount of PR3<sup>m</sup> on PLS neutrophils, whereas the total amount of PR3<sup>m</sup> on healthy neutrophils was significantly increased. We then explored the effect of pharmacological CatC inhibition on PR3 stability in normal neutrophils using a potent cell-permeable CatC inhibitor and a CD34<sup>+</sup> hematopoietic stem cell model. Human CD34<sup>+</sup>hematopoietic stem cells were treated with the inhibitor during neutrophil differentiation over 10 days. We observed strong reductions in PR3<sup>m</sup>, cellular PR3 protein, and proteolytic PR3 activity, whereas neutrophil differentiation was not compromised.

## Rôle de la prénylation de protéine dans la maturation des graines et la biosynthèse des acides gras chez *Arabidopsis thaliana*

V. Vergès<sup>1</sup>, C. Conart<sup>1</sup>, M. Pinault<sup>2</sup>, C. Guimaraes<sup>2</sup>, S. Chevalier<sup>2</sup>, N. Giglioli-Guivarc'h<sup>1</sup>, C. Dutilleul<sup>1</sup>, E. Ducos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>E.A. 2106 - BBV <sup>2</sup>INSERM UMR1069 - N2C

Les plantes oléagineuses, telles que le colza ou le tournesol, sont cultivées par l'homme pour l'huile contenue dans leurs graines. *Arabidopsis* est une oléagineuse modèle, dont les mutants sont utilisés pour étudier le développement de la plante et la mise en réserve des huiles dans la graine. Nous avons récemment découvert que les graines du mutant *era1* (*Enhanced Response to ABA 1*) sont plus grosses et plus lourdes que des graines sauvages et que leur contenu en acides gras est altéré avec notamment un enrichissement en  $\omega 6$  et une déplétion en  $\omega 3$ . Des études génétiques ont montré que le gène *ERA1* code pour une enzyme impliquée dans une modification post-traductionnelle appelée prénylation de protéine. Celle-ci consiste en l'ajout d'un groupement prényl sur des protéines dotées d'un motif CaaX spécifique situé à leur extrémité C-terminale. Du fait du grand nombre de protéines CaaX prédites dans le génome d'*Arabidopsis*, les mécanismes moléculaires expliquant le phénotype "graine" du mutant *era1* sont encore peu connus. Comprendre comment les protéines CaaX prénylées affectent la maturation des graines chez *era1* pourrait offrir de nouvelles cibles pour la sélection des oléagineuses de grandes cultures. Ainsi, des analyses bioinformatiques sur des données transcriptomiques avec les *loci* de protéines CaaX et des gènes marqueurs du développement de la graine ont permis d'identifier 14 protéines CaaX potentiellement impliquées dans le phénotype "graine" d'*era1*. Les mutants *knock-out* de ces 14 candidats sont en cours de caractérisation quant à la qualité des huiles de leurs graines.

**Mots-clés** : *Arabidopsis*, graine, prénylation, acides gras, oléagineuse, brassicacée

## Characterization of the cellular determinants involved in Marek Disease Virus shedding

Aurélien Chuard, Caroline Denesvre, David Padeloup

ISP/ BIOVA, INRA CVDL, 37 380 Nouzilly, France

Marek Disease Virus (MDV) is a deadly and contagious alpha-herpesvirus infecting chickens causing T-cell lymphomas. The current vaccine prevents the death of infected animals. However, it does not prevent infection by WT strains and their spread and new virulent strains emerged over time. Therefore our research is focused on the understanding of the mechanism of viral excretion from the feather follicle epithelium (FFE), the only known site of viral shedding.

To identify cellular determinants specifically involved in viral shedding from the FFE, we generated cDNA libraries from the feather pulp and from the thymus. These libraries were screened by yeast two-hybrid assays for interacting proteins using the pUL47 protein as bait. pUL47 is a tegument protein potentially involved in MDV shedding and/or transmission.

We will present the first results from the Y2H screen and the potential of these interactions with regards to skin tropism and viral transmission

## Développement d'une culture cellulaire originale pour l'étude de la physiopathologie de l'infection par le virus de l'hépatite C

Jade Cochard, Anne Bull, Jean-Christophe Meunier, Philippe Chouteau

INSERM U1259 Morphogénèse et Antigénicité du VIH et des Virus de Hépatites, Tours

A un stade avancé de la maladie hépatique induite par le virus de l'hépatite C (VHC), les nouvelles molécules thérapeutiques, bien qu'efficaces, se montrent inopérantes pour atténuer l'évolution de la cirrhose et le développement du cancer du foie (CHC). Comprendre l'impact cellulaire de l'infection virale dans ce contexte physiopathologique est donc un enjeu majeur de santé publique. Ce contexte se caractérise principalement par une très faible oxygénation (1% O<sub>2</sub> - hypoxie) dans des cellules différenciées. Notre objectif est donc d'établir un modèle original de culture de cellules hépatiques différenciées en hypoxie, et d'analyser l'impact de son infection par le VHC à la fois sur le cycle viral et sur les voies intracellulaires liées au CHC. Nos résultats montrent que, comparée aux cellules témoins, la lignée hépatocytaire Huh7.5 traitée au DMSO présente des augmentations de 3 à 15 fois des ARNm de marqueurs hépatocytaires (albumine, HNF4 et A1AT), une forte production extracellulaire d'albumine et la mise en place membranaire de E-cadhérine et de jonctions serrées, attestant de caractéristiques très significatives de différenciation. La mise sous hypoxie (1% O<sub>2</sub>) de ces cellules conserve ces caractéristiques. De façon très intéressante elle active en outre l'expression des apoE et B et rétablit une sécrétion de lipoprotéines de structure similaire à celles présentes dans le sérum humain. Cette voie de sécrétion est centrale dans la morphogénèse du VHC et l'infection de ce modèle physiologique maintenant établi permettra d'évaluer son impact sur le cycle viral et sur les dérèglements métaboliques et énergétiques caractéristiques du CHC viro-induit.

**Mots-clés** : Virus de l'hépatite C, physiopathologie, hypoxie

## Régulation des fonctions de neutrophiles au cours de l'infection grippale

Florent CREUSAT<sup>1,2</sup>, Youenn JOUAN<sup>1,2,3</sup>, Thomas BARANEK<sup>1,2</sup>, Mustapha SI-TAHAR<sup>1,2</sup> and  
Christophe PAGET<sup>1,2</sup>

1: Université de Tours, Tours, France; 2: INSERM U1100, CEPR Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Tours, France; 3: CHU Bretonneau, Tours, France

Les polynucléaires neutrophiles sont des cellules effectrices clés durant l'infection, souvent considérés comme des cellules mono-tâches spécialisées dans l'élimination des pathogènes via différents mécanismes.

Toutefois, de plus en plus de recherches semblent repositionner le neutrophile comme une cellule pouvant réguler les réponses immunitaires dans de nombreux contextes (cancer, auto-immunité, infection). A titre d'exemple, le neutrophile peut présenter un profil pro- ou anti-inflammatoire au cours de l'infection grippale au niveau de la muqueuse respiratoire. Ainsi, le neutrophile a été proposé comme jouant en effet soit bénéfique, soit délétère selon les études. Bien que la différence des modèles utilisés puisse expliquer en partie ces résultats, nous émettons l'hypothèse qu'un tel phénotype pourrait être également dû à l'existence de différentes sous-populations fonctionnelles ou à une reprogrammation fonctionnelle de ces cellules liée à l'infection virale.

Au cours de l'infection par le virus Influenza, nous avons observé l'émergence d'une population de neutrophiles matures exprimant Ly6A (Sca-1). Cette population présente un profil phénotypique et fonctionnel immunorégulateur comparativement à la population Sca-1<sup>-</sup>.

Notre projet a pour ambition de mieux comprendre l'origine et le rôle de cette population neutrophilique particulière au cours de l'infection grippale. Notre étude pourrait donc permettre une meilleure compréhension du rôle paradoxal des neutrophiles dans certaines réponses immunitaires..

## **Localisation de l'interaction entre Gag du VIH-1 et l'ARN viral : Utilisation combinée de la microscopie confocale et électronique**

Stéphanie Durand, Florian Seigneuret, Julien Gaillard, Philippe Roingeard et Hugues de Rocquigny

INSERM U1259 Morphogenèse et antigenicité du VIH et des Virus des Hépatites, Tours

Le VIH-1 (Virus de l'Immunodéficience Humaine) est un rétrovirus enveloppé dont le génome est composé de deux brins d'ARN de polarité positive. Lors du cycle de réplication, cet ARN est utilisé comme un ARN messager qui est traduit pour former la polyprotéine Gag de 55 kDa. Celle-ci est composée de quatre sous-domaines : la matrice (MA), la capsid (CA), la nucléocapsid (NC) et la p6. Le domaine NC interagit de manière spécifique avec l'UTR 5' de l'ARN viral induisant la polymérisation de la polyprotéine Gag et donc la formation de la particule virale. Le but de ce projet de recherche est de déterminer plus précisément dans quel compartiment cellulaire se produit l'interaction entre la protéine Gag et l'ARN génomique du VIH lors des premières étapes de l'assemblage viral.

Pour débiter ces travaux, nous nous sommes focalisés sur le partenaire protéique Gag. Nous avons développé la méthode CLEM (Correlated Light and Electron Microscopy) qui combine la microscopie confocale permettant de choisir un phénotype d'intérêt à la microscopie électronique rendant possible la visualisation de structures virales dans un environnement cellulaire. La polyprotéine Gag a été fusionnée à la protéine miniSOG qui fluoresce entre 500 et 528 nm quand elle est excitée à 448 nm, ce qui la rend facilement détectable par microscopie confocale. Elle peut également être détectée en microscopie électronique par sa capacité à produire des structures denses aux électrons. Nos premières expériences de mise au point de la technique CLEM sur la protéine Gag-miniSOG nous ont permis de relier une cellule imagée en microscopie confocale à des images de cette même cellule prises en microscopie électronique à transmission. Deux phénotypes caractéristiques ont ainsi été mis en évidence. Le phénotype majeur se traduit par l'accumulation de Gag-miniSOG au niveau de la membrane plasmique de la cellule. Le phénotype mineur se caractérise par une accumulation de Gag-miniSOG dans des vésicules cytoplasmiques qui seraient potentiellement des MVB (Multi Vesicular Bodies). L'objectif de nos travaux est désormais de co-localiser la protéine Gag et l'ARN viral et de déterminer précisément la localisation cellulaire de ce complexe.

**Mots-clés** : VIH-1, Gag, ARN, CLEM, Microscopie confocale, Microscopie électronique

## Caractérisation d'un opéron de *Streptococcus agalactiae* codant un ABC transporteur de polyamines

Sarah Khazaal<sup>1,2</sup>, Aurélie Hiron<sup>1</sup>, Rim Al Safadi<sup>2</sup> et Philippe Gilot<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bactéries et Risque Materno-Foetal, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, Université François Rabelais, INRA, Tours, F-37032, France.

<sup>2</sup> Centre AZM pour la recherche en biotechnologie et ses applications, Université Libanaise, Tripoli, Liban

Les polyamines, putrescine, spermidine et spermine, forment un groupe de polycations organiques chargés positivement à pH physiologique. Chez les procaryotes, elles sont impliquées dans plusieurs mécanismes biologiques, tels que la formation de biofilm, l'activation de toxines, la protection contre les stress physiologiques et la virulence. La plupart des bactéries les acquièrent grâce à un ou plusieurs systèmes de transport mais elles peuvent également les synthétiser à partir d'acides aminés (Shah *et al.*, 2008).

Aucune donnée n'existe sur le rôle physiologique des polyamines chez *S. agalactiae*. Cette bactérie commensale de l'intestin et du vagin, est la principale responsable de méningites néonatales. Elle est aussi un pathogène émergent chez les adultes immunodéprimés et est capable d'infecter d'autres espèces animales comme le bovin et les poissons (Robinson and Meyer, 1966 ; Skoff *et al.*, 2009).

Nous avons recherché l'existence d'enzymes impliquées dans les voies de synthèse des polyamines par analyse de 954 génomes complètement séquencés de *S. agalactiae*. Nos données indiquent que cette bactérie ne possède pas les voies de synthèse de : i) la putrescine à partir de la L-ornithine ou de la L-arginine, ii) la spermidine à partir de la putrescine, de l'asparate  $\alpha$ -semi aldéhyde ou de la S-adénosyl-méthionine, iii) la spermine à partir de la spermidine.

*S. agalactiae* semble donc être obligé d'acquérir les polyamines à partir de son environnement. Le génome de toutes les souches de cette bactérie code un ABC transporteur putatif (PotABCD) de polyamines (Tetellin *et al.*, 2002; Flécharde *et al.*, 2013). Il a été décrit que la séquence d'insertion IS 1548 peut s'intégrer en amont du promoteur de cet opéron (Flécharde *et al.*, 2013). Cette insertion pourrait intervenir dans sa régulation. Nous avons étudié la phylogénie de 954 souches dont le génome a été séquencé et montré que cette insertion ne se produit que chez les souches du complexe clonal 19 (CC19). Nous avons étudié l'influence de cette insertion en amplifiant une région de 500 pb en amont du début de la transcription de cet opéron chez une souche de CC19 sans et avec l'IS. Des fusions transcriptionnelles avec le gène de la  $\beta$ -galactosidase ont ensuite été construites et introduites chez *S. agalactiae*. Dans aucune des conditions de culture testées, le dosage de la  $\beta$ -galactosidase n'a permis de montrer que l'IS 1548 influe sur l'expression de l'opéron *potABCD*.

Nos travaux en cours visent à comprendre le rôle physiologique du transporteur PotABCD et les conditions de son expression.

### **Références :**

Flécharde M., Gilot P., Héry-Arnaud G., Mereghetti L., and A. Rosenau. 2013. FEMS Microbiol Lett., 340, 65-72.

Robinson, J.A. and F.P Meyer. 1966. J. Bacteriol., 92, 512.

Shah P., Romero D.G., and E. Swiatlo. 2008. Microb Pathog., 45, 167-172.

Skoff T.H., Farley M.M., Petit S., Craig A.S., Schaffner W., *et al.* 2009. Clin. Infect. Dis., 49, 85-92.

Tetellin H., Massignani V., Cieslewicz M.J., Eisen J.A., Peterson S., *et al.* 2002. PNAS, 99, 12391-96.

## Complementary roles of the S and L envelope proteins in the capsid recruitment and the HBV budding

Florentin Pastor, Hugues de Rocquigny, Romuald Patient, Julien Gaillard, Florian Seigneuret, Charline Herrscher, Philippe Roingeard and Christophe Hourieux

*INSERM U1259 Morphogenèse et Antigénicité du VIH et des Virus des Hépatites, Tours*

Two types of viral particles are typically secreted during the HBV infection: the infectious particles together with empty envelope particles referred as the subviral particles (SVPs). For a long time, synthesis and insertion of these proteins within the endoplasmic reticulum (ER) membranes suggested that viral assembly and budding involved ER-derived membranes and the ERGIC compartment in a similar manner as shown for SVPs morphogenesis and secretion. However, over the past few years, increasing evidences argue for the involvement of a distinct compartment for the viral budding potentially identified as the multivesicular bodies. Even if the implication of the S and L envelope proteins in the viral particle morphogenesis are well known, their distinct roles regarding the nucleocapsid recruitment and envelopment are still poorly understood.

To address these questions, we designed a series of S and L envelope proteins mutants which were co-expressed with the core protein in cells replicating or not the virus. Combining molecular and imaging strategies, our results showed that the S and L proteins present different profiles in the recruitment of the core protein. When the L protein is expressed alone, co-localization and co-immunoprecipitation analysis suggest that the L protein recruits the core protein independently from the replication cycle. In sharp contrast, the S protein was shown able to interact with core protein only in a replicative context.

Together, these results suggest that the L protein could be a central component during viral morphogenesis, i) allowing the capsid recruitment close to membranes involved in the budding, ii) interacting with the S protein, the well-known effector of the budding. Moreover, our results suggest that the S protein could play a role as a sensor protein leading to the selection of mature capsids for envelopment.

**Mots-clés** : morphogenesis, recruitment, core proteins, envelope proteins, budding, hepatitis B virus.

## Etude fonctionnelle du système CRISPR-Cas de type II-A de *Streptococcus agalactiae*

Pastuszka A<sup>1,2,3</sup>, Camiade E<sup>1,2</sup>, Rousseau GM<sup>4</sup>, Moineau S<sup>4</sup>, Mereghetti L<sup>1,2,3</sup>, Lanotte P<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Université François Rabelais de Tours, UMR1282 ISP, Faculté de Médecine, Equipe Bactéries et risque materno-fœtal, F-37032 Tours, France

<sup>2</sup>INRA, UMR1282 ISP, Equipe Bactéries et risque materno-fœtal, F-37380 Nouzilly, France

<sup>3</sup>CHRU de Tours, Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène hospitalière, F-37044 Tours, France

<sup>4</sup>Département de biochimie, de microbiologie, et de bioinformatique, Faculté des sciences et de génie, Groupe de recherche en écologie buccale, Faculté de médecine dentaire, Université Laval, Québec City, QC, G1V 0A6, Canada

Les systèmes CRISPR-Cas sont un mécanisme important de défense bactérien, composés d'un locus CRISPR, alternance de repeat et de spacer et des gènes *cas*, codant la machinerie protéique. *Streptococcus agalactiae*, première cause d'infections néonatales bactériennes, possède un système CRISPR ubiquitaire et dynamique de type II-A. Des travaux préliminaires ont montré des différences significatives dans le nombre de spacers par locus en fonction des lignées phylogénétiques, pouvant être éventuellement expliquées par des différences de fonctionnalité du système. L'alignement des séquences de la région promotrice de l'opéron *cas* a mis en évidence une délétion de 103pb chez les souches appartenant au ST17, supprimant ainsi le promoteur. Des expériences de fusion transcriptionnelle et une analyse par RT-qPCR ont confirmé l'inactivité du promoteur de ces souches, qui par ailleurs, sont celles possédant le moins de spacers. Afin d'évaluer l'impact de cette délétion sur la fonctionnalité du système, des essais d'interférence et d'adaptation ont été mis au point. Il apparaît ainsi que, malgré la disparition du promoteur de l'opéron *cas*, le système CRISPR des souches de ST17 semble toujours fonctionnel, que ce soit dans sa capacité de défense vis-à-vis d'un spacer déjà intégré, ou dans sa capacité d'acquisition de nouveaux spacers. Il existe donc des différences de structure du système CRISPR-Cas entre les lignées phylogénétiques de *S. agalactiae*, mais qui ne semblent pas affecter la fonctionnalité du système. Ceci pourrait suggérer l'intervention d'autres éléments, pouvant jouer un rôle régulateur important, notamment chez les souches hypervirulentes du ST17.

## Functional impact of A-prophage with *Streptococcus agalactiae* adaptation facing *Lactobacillus* from the vaginal flora

Adélaïde Renard, Pauline Cantin, Sandra Dos Santos Borges, Marion Lacasse, Anne-Sophie Valentin, Laurent Mereghetti, Roland Quentin, Nathalie van der Mee-Marquet

UMR 1282 Infectiologie et Santé Publique, Equipe Bactéries et risque materno-fœtal, Université de Tours

**Context:** Vaginal flora, mostly formed of *Lactobacilli*, prevent vaginal colonization by pathogens. *Streptococcus agalactiae* (GBS) may colonize the vagina from pregnant women and infect neonates during delivery. Whole genome sequencing of 14 GBS strains representative of the species, revealed 22 prophages clustered into 6 groups (A-F). Most infecting GBS strains carry A-prophages inserted near host genes involved in bacterial adaptation to stress, and encoding putative virulence factors and factors contributing to the fitness of the lysogen.

**Our hypothesis:** A-prophages may have a positive impact on host adaptation facing *Lactobacilli*, and thus favour vaginal colonization and GBS neonatal infection.

**Strategy and results:** Comparing isogenic strains differing only by the presence or absence of A-prophage, regarding their growth in presence of *Lactobacillus* culture supernatant, and biofilm formation, we demonstrated 1) a maximal growth +15% greater for lysogenic strain rather than for prophage-free, 2) a greater resistance facing *L. crispatus* supernatant for lysogenic strain (generation time +43 to +95% greater for prophage free strain), and 3) a greater capacity for lysogenic strain to form biofilm (Biofilm Formation Index twice as important for lysogenic strain when compared with prophage-free).

**Conclusion:** Our data suggest a functional impact of A-prophage carried by GBS.

**Key words:** *Streptococcus agalactiae*, temperate phages, *Lactobacillus*, biofilm

## **Love them all ! No kin discrimination during maternal egg care in the European earwig *Forficula auricularia***

Sophie Van Meyel, Séverine Devers, Joël Meunier

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI), UMR 7261, CNRS, Université de Tours, Tours, France

Kin discrimination is considered a central parameter in the evolution of social life. Within family units, parents are typically thought to evolve discrimination against foreign offspring to direct care towards their own descendants. Selection for this kin discrimination is expected to be particularly high when parental care is long and involves numerous and energetically costly behaviours, when parents only have limited resources to spend in care, as well as when population densities and the associated risks of social parasitism are high. In this study, however, we demonstrate that these parameters do not select for kin discrimination against foreign eggs in the European earwig. Using experimental clutches where mothers tended either their own or foreign eggs, we showed that the level of maternal investment into three important forms of care (egg grooming, egg defence and maternal return), as well as their associated trade-offs in terms of maternal weight loss and immunity, were all independent of egg origin. Similarly, egg hatching success and juvenile quality did not differ between treatments. Overall, these findings demonstrate that earwig mothers do not display kin discrimination during egg care and more generally, emphasize that the evolution of parental care does not necessarily rely on and/or lead to the emergence of kin discrimination in insects.

**Keywords:** Parental care, Parental investment, Egg recognition, Dermaptera, Social insect

## Structures et fonctions de la protéine NS1 des virus influenza pour la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques

Alan WACQUIEZ<sup>1</sup>, Stéphane GOFFINONT<sup>2</sup>, Virginie NADAN<sup>2</sup>, Franck COSTE<sup>2</sup>, Emmanuel KUT<sup>1</sup>, Bertrand CASTAING<sup>2</sup> et Daniel MARC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Equipe « Pathologie et Immunologie Aviaire », UMR 1282 ISP, INRA Nouzilly

<sup>2</sup>Equipe « Réparations de l'ADN : Structure, Fonction et Dynamique », UPR4301 CBM, CNRS Orléans

Les virus influenza A sont responsables de pandémies et d'épidémies chez l'Homme, et d'épizooties chez les oiseaux. A ce jour, seuls la vaccination et deux inhibiteurs de la neuraminidase sont efficaces pour prévenir la maladie et réduire la multiplication du virus. Toutefois, l'apparition de résistances peut compromettre l'efficacité des traitements, justifiant la recherche de nouveaux composés ciblant d'autres protéines virales. Ces virus échappent aux défenses antivirales de la cellule via la protéine non-structurale 1 (NS1), laquelle est nécessaire au bon déroulement du cycle viral et apparaît comme une cible thérapeutique prometteuse. En effet, des mutations invalidant le domaine de liaison à l'ARN (RBD) de NS1 réduisent la réplication virale et abolissent la pathogénicité.

Des travaux antérieurs du laboratoire ont révélé que le RBD de NS1 se lie à des motifs très conservés dans les ARN viraux de polarité positive. L'objectif de ma thèse est d'élucider la structure 3D de la protéine NS1 en complexe avec ces motifs conservés, dans la perspective à plus long terme de développer de nouveaux inhibiteurs ciblant cette interaction. Outre cet objectif de détermination de structure (production de NS1 recombinantes, sélection de petits ARN ligands, co-cristallisation de complexes NS1-ARN), nous étudions la relevance biologique des interactions NS1-ARN viraux, par la caractérisation de virus mutants pour les sites hautement conservés dans les ARN viraux.

Plusieurs variants du RBD de NS1 ont été purifiés et cristallisés en l'absence d'ARN, et la structure de l'un d'eux a été déterminée. Par gel retard nous avons montré que les petits ARN double-brin dotés du motif GUAAC sont de très bons ligands, candidats à la formation de complexes cristallisables. De plus, pour évaluer l'importance biologique des interactions NS1-ARNm viraux dans le cycle viral, nous avons généré des virus porteurs de mutations qui suppriment dans les ARNm viraux les motifs putatifs interagissant avec NS1. Le phénotype de ces virus mutants, tous viables, reste encore à déterminer. A l'aide d'un système « miniréplicon » en cellules HEK293T nous étudions les activités de NS1 sur les étapes de transcription, d'épissage et de traduction de son propre ARN messager.

**Mots-clés** : virus influenza, NS1, génétique inverse, ARNm, complexes NS1-ARN.

## Development of chemo-enzymatic methodologies for the total synthesis of proteins through solid-supported chemical ligation

Skander Abboud,<sup>1</sup> Véronique Piller,<sup>1</sup> Sébastien Papot,<sup>2</sup> Agnès F. Delmas,<sup>1</sup> Vincent Aucagne.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>: CBM, UPR4301 CNRS, Orléans ; <sup>2</sup>: IC2MP, UMR7285 CNRS-Université de Poitiers.

Total synthesis of proteins complements recombinant techniques for applications in chemical biology or in drug discovery. This approach is particularly useful for accessing modified proteins or those difficult to produce. Current technologies focus on the assembly of unprotected peptide fragments through chemoselective reactions called “chemical ligations”. In recent years our group has developed solid-supported ligations strategies in order to avoid intermediate purifications that severely impair the yields of solution phase syntheses. To this end, we have introduced a range of chemically-cleavable linkers allowing the immobilization of a first peptide segment on a suitable solid support. After successive ligations, cleavage of the linker leads to the release in solution of the synthesized protein. The linkers developed up to now call for conditions which, while being very mild, are still hardly compatible with many targets, thus limiting their scope. The main objective of my PhD thesis is to develop a new generation of linkers exploiting an enzymatic cleavage<sup>1</sup> (see figure). I will present the main results I obtained during my first year, including the optimization of the synthesis of peptide “crypto-thioesters”,<sup>2</sup> key components for the native chemical ligation (NCL) reaction.



- 1) T. Legigan *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51, 11606 -11610. 2) V. P. Terrier *et al.*, *Chem. Sci.*, **2016**, 7, 339-345.

## La neurofibromine une nouvelle cible de SUMO impliquée dans la maladie NF1

Mohammed Bergoug, Aurélie Cosson, Michel Doudeau, Fabienne Godin, Béatrice Vallée et Hélène Benedetti

Centre de biophysique moléculaire, CNRS

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est une maladie génétique caractérisée par une large variété de symptômes : taches de pigmentation sur la peau, tumeurs du système nerveux, central et périphérique, et déficits cognitifs.

Le gène suppresseur de tumeurs *NF1* est le responsable de cette maladie. Il code une protéine de grande taille, la neurofibromine (Nf1), dont la fonction la mieux étudiée est la régulation négative de la voie de signalisation RAS impliquée dans la prolifération cellulaire. Cette régulation négative de RAS se fait via l'activité RAS-GAP (*RAS GTPase Activating Protein*) de Nf1 qui est portée par son domaine fonctionnel GRD (*GAP Related Domain*).

Il a été montré que Nf1 était régulée par des modifications post-traductionnelles (MPT) telles que la Phosphorylation et l'Ubiquitination. Dans notre équipe, nous étudions sa régulation par une autre MPT qui est la SUMOylation. Cette MPT consiste à établir une liaison covalente entre une ou plusieurs petites protéines appelées SUMO « *Small Ubiquitin like-Modifier* » et un résidu lysine de la protéine cible.

Dans ce travail nous avons démontré que Nf1 endogène est SUMOylée. Ses domaines fonctionnels GRD et SecPH sont modifiés par SUMO2 et présentent différentes formes de SUMOylation. La lysine K1731 du domaine SecPH a été identifiée comme un site de SUMOylation. Notre travail est focalisé actuellement sur le rôle fonctionnel de la SUMOylation de cette lysine : (i) dans la régulation de l'activité RAS-GAP de la protéine, (ii) dans ses interactions avec des partenaires, (iii) dans sa localisation subcellulaire et (iiii) dans sa stabilité. Nous voulons également savoir si la SUMOylation de Nf1 aurait un rôle dans NF1.

**Mots-clés** : Neurofibromatose de type 1, SUMOylation, activité RAS-GAP, Interactions protéine-protéine

## Quantification des retours de nutriments via la lixiviation : étude expérimentale de quatre essences feuillues

Bessaad Abdelwahab<sup>1</sup>, Mazzola Jean-Mary<sup>2</sup>, Cotel Loïc<sup>1</sup>, Bilger Isabelle<sup>1</sup>, Korboulewsky Nathalie<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Irstea, EFNO, Domaine des Barres 45290, Nogent sur Vernisson.

<sup>2</sup> Université d'Orléans, Château de la Source 45067, Orléans.

L'étude s'intègre au projet DEFIFORBOIS portant sur la durabilité de l'exploitation du bois énergie en région Centre-Val de Loire (<https://defiforbois.irstea.fr>) et s'intéresse à l'entraînement des éléments minéraux des branches feuillées par la pluie pendant la phase de réessuyage des tas de bois. Ce processus appelé lixiviation est défini comme l'entraînement des matériaux solubles (éléments minéraux) par un solvant (pluie) et se distingue du lessivage qui concerne les particules solides.

L'intérêt de l'expérimentation est de déterminer le temps de réessuyage optimal pour maximiser les retours au sol des nutriments permettant de préserver la qualité chimique des sols forestiers.

Après deux mois de réessuyage, 96 % de potassium est lixivié, 20 % de magnésium et moins de 5 % pour les autres éléments minéraux. Un temps de réessuyage plus long est nécessaire pour la lixiviation de Ca, Mg, Al et P. La recommandation reste de récolter hors feuilles ou de laisser réessuyer jusqu'à la chute de feuilles.

**Mots-clés** : bois énergie – fertilité – lixiviation – réessuyage – éléments minéraux – durabilité.

## Straightforward synthesis of biorelevant tetrahydro-[1,6]-naphthyridines

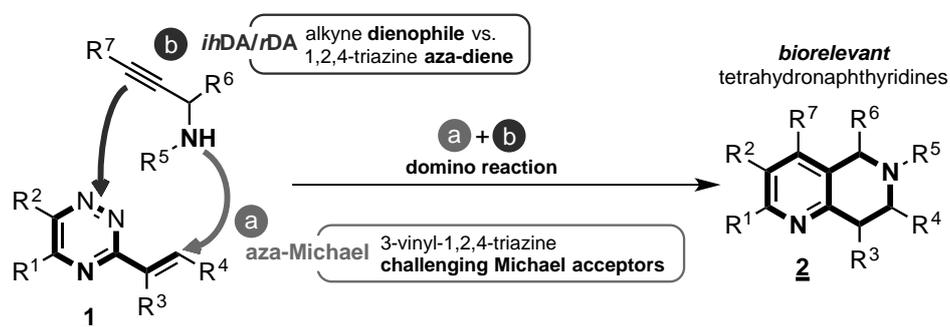
Floris BUTTARD,<sup>1</sup> Clément BERTHONNEAU,<sup>2</sup> Marie-Aude HIEBEL,<sup>1</sup> Jean-François BRIERE,<sup>2</sup> and Franck SUZENET<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ICOA, Université d'Orléans, CNRS UMR 7311, Rue de Chartres 45067 Orléans, France

<sup>2</sup>Normandie Univ, INSA Rouen, UNIROUEN, CNRS, COBRA, 76000 Rouen, France

[floris.buttard@univ-orleans.fr](mailto:floris.buttard@univ-orleans.fr), [www.icoa.fr](http://www.icoa.fr)

With the aim to propose new straightforward synthetic pathways to biorelevant nitrogen containing saturated-unsaturated bicyclic compounds, we have developed an original access to diversely substituted tetrahydro-[1,6]-naphthyridines **2**. In this context, recent studies revealed that the presence of  $sp^3$  hybridized carbons and chiral stereocenters within bioactive compounds, namely by escaping the flatland, maximizes the on-target profile, which decreases risk of toxicity issues in the clinic setting. In an innovative synthetic approach, we have shown that 3-vinyl-1,2,4-triazines **1** are unique bifunctional platforms able to react in domino reactions to access such complex heterocyclic scaffolds.



The key points for the success of this new synthetic approach will be discussed in this communication.

**Keywords** : bioactive molecules; heterocycles; domino reactions.

## Recherche d'inhibiteurs des enzymes de réparation de l'ADN hNEIL1 et hOGG1, de nouvelles cibles pertinentes pour le développement de thérapies anticancéreuses

Julien CROS (1)\*, Franck COSTE (1), Stéphane GOFFINONT(1), Virginie NADAN (1), Vincent ROY(2), Luigi AGROFOGLIO(2), Bertrand CASTAING (1).

(1) Centre de Biophysique Moléculaire CNRS, UPR 4301, Rue Charles Sadron, 45071 Orléans Cedex 2, France

(2) Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA), UMR 7311 Rue de Chartres, 45067 Orléans Cedex 2, France

L'ADN est constamment endommagé par des agents d'origine endogène (métabolisme) et exogène (comme les rayons UV ou certains agents chimiques). Ces dommages (oxydation, alkylation etc..) peuvent entraîner la mort cellulaire (par exemple en bloquant la réplication) ou des mutations et doivent donc être éliminés [1]. De nombreux systèmes de réparation collaborent pour maintenir la stabilité génétique, notamment le système de réparation par excision de base (ou BER), initié par les ADN glycosylases [2] telles que les enzymes humaines OGG1 et NEIL1 qui reconnaissent et excisent certaines bases oxydées [3,4]. Cependant, dans le cadre de certains traitements anti-cancéreux (la chimiothérapie génotoxique ou la radiothérapie par exemple), l'objectif thérapeutique est d'induire préférentiellement des dommages dans l'ADN des cellules tumorales. Dans ce contexte, les enzymes de réparation de l'ADN peuvent conduire à des résistances thérapeutiques, ce qui semble indiquer, paradoxalement, que le ciblage de ces systèmes constitue une stratégie pertinente pour lutter contre certains cancers. [5,6]. L'invalidation sélective de NEIL1 et d'OGG1 (KO chez la souris) a peu d'effet sur la viabilité et la fertilité. Néanmoins, l'invalidation de NEIL1 ou OGG1 (siARN ou inhibiteurs) peut augmenter de façon significative la cytotoxicité d'agents chimiothérapeutiques et radiothérapeutiques dans des lignées cellulaires, modèles de certains cancers [7,8,9].

Nous présentons ici les résultats de criblages de différentes banques moléculaires naturelles ou synthétiques sur les enzymes OGG1 et NEIL1 et une première caractérisation des hits obtenus.

[1] Lindahl, T., 1993. *Nature*. **362**(6422), 709-15

[2] Dalhus B., et al., 2009. *FEMS Microbiol Review*. **33**, 1044-1078

[3] Boiteux, et al., 2017. *Freeradbiomed*. **107**, 179-201

[4] Grin, I.R., Zharkov, D.O., 2011. *Biochemistry (Moscow)*. **76**, 99-114.

[5] Madhusudan & Hickson *Trends Mol Med*, 2005. *Trends Mol Med*. **11**(11): p. 503-11.

[6] Basu, et al., 2012. *Curr Opin Oncol*. **24**(3), 316-24.

[7] Arai, et al., 2006. *Toxicology*. **221**(2-3), 179-186.

[8] Ramdzan, et al., 2015. *Oncotarget*. **6**, 3613-3626.

[9] Taricani, et al., 2010 *Cell cycle*. **9**, 4876-4883.

## Imagerie ATR-FTIR : caractérisation du bois à l'échelle de la paroi végétale

Clément Cuello<sup>1,2</sup>, Paul Marchand<sup>1</sup>, Françoise Laurans<sup>1,3</sup>, Camille Grand-Perret<sup>1</sup>, Véronique Lainé-Prade<sup>1,3</sup>, Gilles Pilate<sup>1</sup>, Annabelle Déjardin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR Biologie intégrée pour la valorisation de la diversité des arbres et de la forêt (BioForA), INRA, ONF, F-45075 Orléans Cedex 2, France ; <sup>2</sup> Ecole Doctorale 549 'Santé, Sciences Biologique et Chimie du Vivant' (SSBCV), Université d'Orléans, F-45067 Orléans Cedex 2, France ; <sup>3</sup> Plateforme régionale Génoboïs, F-45075 Orléans Cedex 2, France

Les arbres atteignent des hauteurs et des durées de vie considérables grâce aux propriétés remarquables de leur bois. En effet, le bois remplit trois fonctions principales : (1) la conduction de l'eau de la racine au houppier, (2) le soutien mécanique de la masse toujours croissante de l'arbre en croissance et (3) le stockage de réserves temporaires, capitales pour la survie de l'arbre au fil des ans. Différents types cellulaires sont affectés à chacune de ces fonctions. Les fibres sont impliquées dans le maintien mécanique, les vaisseaux dans la conduction de l'eau et les cellules de rayons dans le stockage d'amidon et/ou de lipides pendant la période de repos. De plus, alors que les fibres et vaisseaux subissent rapidement une mort cellulaire, les rayons restent vivants beaucoup plus longtemps. Ainsi, le bois est un assemblage complexe des parois secondaires des fibres et vaisseaux, interconnectés aux cellules vivantes de rayons. Afin de s'affranchir de cette grande complexité, l'étude des mécanismes moléculaires de la formation du bois doit être préférentiellement réalisée au niveau de la cellule. Nous avons donc développé une méthode non destructive basée sur l'imagerie ATR-FTIR pour caractériser les parois secondaires sur des sections de bois de peuplier. Nous avons démontré que (i) les spectres réalisés sur les parois cellulaires des fibres sur coupe différaient des spectres obtenus à partir de poudre de bois et que (ii) l'imagerie ATR-FTIR permet de discriminer les parois des différents types cellulaires. La microspectroscopie ATR-FTIR est donc un outil prometteur pour caractériser finement la paroi cellulaire des différents types de cellules du bois.

**Mots-clés** : Microspectroscopie ATR-FTIR, parois cellulaire, bois, peuplier, types cellulaires

## Serotonin 5-HT<sub>7</sub> receptor: characterization of new potent ligands with therapeutical properties

Chayma El Khamlichi(1)\*, Flora Reverchon(1), Elodie Robin(1), Nicolas Chopin(2), Emmanuel Deau(2), Andrzej Bojarski(3), Gérald Guillaumet(2), Franck Suzenet(2), Eric Reiter(4), Séverine Morisset-Lopez(1)

(1) Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301, Université d'Orléans et INSERM, rue Charles Sadron, 45071 Orléans Cedex 2, France. (2) Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans, CNRS, UMR 7311, rue de Chartres, 45067 Orléans, France. (3) Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences, 12 Smętna Street, Kraków 31-343, Poland. (4) UMR Physiologie de la Reproduction et des comportements, UMR 7247 INRA- CNRS- Univ. Tours, 37380 Nouzilly, France

Serotonin receptors are highly heterogeneous and are classified in seven classes of receptors (5-HT<sub>1</sub>-5-HT<sub>7</sub>) that comprise at least 15 subtypes. With the exception of the 5-HT<sub>3</sub> receptor which is a ligand-gated ion channel, all others are G-protein coupled receptors (GPCRs) with each family sharing structural, pharmacological and transductional characteristics. 5-HT receptors are known to be implicated in the regulation of several psychiatric and neurological disorders. Furthermore, recent data support the idea that 5-HT<sub>7</sub> receptors agonists might have also potential therapeutic interest for the treatment of chronic pain. However, most available 5-HT<sub>7</sub> agonists have a low selectivity and/or an insufficient biodisponibility. Our goal is to design selective and potent 5-HT<sub>7</sub> agonists and to characterize their pharmacological profile both *in vitro* and *in vivo*.

Pharmacomodulation studies performed at ICOA in Orleans, associated with pharmacological studies conducted at the Institute of Pharmacology in Krakow, allow us to select new potent 5-HT<sub>7</sub> compounds. To understand the molecular bases of their effects, we evaluated their intrinsic activities in various functional assays. We defined their agonist, inverse agonist or antagonist activity by measurement of cAMP levels using BRET or TR-FRET methods in HEK cells stably expressing 5-HT<sub>7</sub> receptor. We also investigated their ability to activate others 5-HT<sub>7</sub> receptor signaling pathways (ERK activation, calcium mobilization, recruitment of arrestins...). Our results demonstrate that some molecules can engage different transducer–effector systems. In addition, behavioral studies in mice allow us to detect anti-nociceptive properties of these ligands.

In conclusion, by using various functional assays, we were able to characterize new selective and potent 5-HT<sub>7</sub> ligands with interesting pharmacological properties.

## Transfert de gènes par vecteurs synthétiques : optimisation du transport intracellulaire et de la délivrance de l'ADN plasmidique au noyau

Caroline Girardin, Delphine Maze, Cristine Gonçalves, Chantal Pichon and Patrick Midoux

Centre de Biophysique Moléculaire, UPR 4301, CNRS Orléans, France

Les complexes ADN/ polymères et/ou lipides cationiques, moins immunogènes, moins couteux et dont la taille du transgène n'est pas limitante contrairement aux virus recombinants, sont des vecteurs prometteurs pour le transfert de gènes. Cependant, l'efficacité de transfection reste faible principalement à cause d'un transport intracellulaire et d'une délivrance dans le noyau limités [1]. Trois signaux, impliqués dans la libération de l'ADN dans le cytosol (histidine) [2], sa migration à travers le cytosol (peptide se liant à la dynéine) [3] et dans son transport nucléaire (séquence ADN fixant un facteur de transcription) [4], ont été identifiés au laboratoire. Notre projet vise à maximiser l'efficacité de transfection en assemblant ces signaux à notre formulation d'ADN. Nos recherches sont focalisées sur l'optimisation de plasmides contenant le gène de la dystrophine et du CFTR, dans le contexte de la dystrophie musculaire de Duchenne et de la mucoviscidose, respectivement.

**Mots clés** : transfert de gène, vecteurs synthétiques, transport intracellulaire, délivrance nucléaire, efficacité de transfection

[1] P Midoux, L Pigeon, C Gonçalves and C Pichon. Peptides Mediating DNA Transport on Microtubules and Their Impact on Non-Viral Gene Transfer Efficiency . *Biosci. Rep.* 2017, **37**:

[2] Midoux, P. and Monsigny, M. Efficient gene transfer by histidylated polylysine/pDNA complexes. *Bioconjugate Chem.* 1999, **10**, 406-411.

[3] L Pigeon, C Gonçalves, D Gosset, C Pichon and P Midoux. An E3-14.7K Peptide That Promotes Microtubules-Mediated Transport of Plasmid DNA Increases Polyplexes Transfection Efficiency . *Small* 2013, **9**: 3845-51.

[4] C Gonçalves, M-Y Ardourel, M Decoville, G Breuzard, P Midoux, B Hartmann, and C Pichon. An Optimized Extended DNA Kappa B Site That Enhances Plasmid DNA Nuclear Import and Gene Expression ». *J. Gene Med.* 2009, **11**: 401-11.

## Mise en place d'une plateforme de criblage bioluminescente, microARNs spécifique, pour l'identification de nouvelles structures bioactives d'intérêt biologique et cosmétique

Elodie Henriet, Yoan Laurent, Chantal Pichon, Patrick Baril

Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS - UPR 4301, Rue Charles Sadron, 45071 Orléans, France

Les microARNs (miARNs) sont maintenant reconnus comme des cibles majeures de la morphogénèse et l'homéostasie cutanée. Cette classe d'ARN non codant suit un programme d'expression complexe lié à leur mode de régulation dynamique, spatiale et temporelle qui est difficile à capturer par les méthodes de détection conventionnelle. Au laboratoire, nous avons développé une sonde d'imagerie moléculaire, appelée RILES (RNAi-Inducible Luciferase Expression System), qui repose sur l'ingénierie d'un vecteur d'expression inductible. Cette sonde permet de générer des signaux optiques qui renseignent sur l'expression et la fonctionnalité d'un miARN. Le RILES est exploité comme plateforme de criblage pour identifier de nouvelles structures bioactives d'intérêt fondamental et translationnel. Le miARN-21.5p est placé au centre de cette stratégie de criblage pour son rôle majeur dans la phase de transition épithélio-mésenchymateuse ; un évènement clé de re-épithélialisation cutanée. Nous avons déterminé les conditions expérimentales optimales pour cribler une petite librairie d'extraits de plantes et avons identifié le « chardon marie » (*Silybum marianum*) pour sa capacité à moduler l'expression du miARN-21.5p et à accélérer la fermeture de brèches cellulaires *in vitro*. Des études mécanistiques sont en cours pour déterminer le mode de fonctionnement de cet extrait naturel à l'échelle cellulaire et moléculaire.

**Mots-clés** : RILES, miARNs, criblage, extraits de plantes, peau, cicatrisation

## Synthèse d'inhibiteurs de Mur-Ligases à visée anti-bactérienne

V. Hervin<sup>1</sup>, C. Hoarau<sup>2</sup>, D. Warszycki<sup>3</sup>, A. Bojarski<sup>3</sup>, U. Bajpai<sup>4</sup>, V. Roy<sup>1</sup>, L. Agrofoglio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>COA, UMR CNRS 7311, Université d'Orléans et CNRS, Rue de Chartres, BP 6759, 45067 Orléans cedex 2, France

<sup>2</sup>COBRA, UMR CNRS 6014, Université et INSA de Rouen, Rue Tesnière, 76821 Mont-Saint-Aignan cedex, France

<sup>3</sup>Académie des sciences de Pologne, 12 smętna, 31-343 Kraków, Pologne

<sup>4</sup>Département de sciences biomédicales, Université de New Delhi, Acharya Narendra Dev College Govind Puri Kalkaji 110019 New Delhi Inde

La résistance bactérienne aux antibiotiques est à l'heure actuelle un réel problème de santé publique et est devenu une des priorités de l'OMS. Dans ce contexte, les enzymes impliquées dans la biosynthèse de la paroi bactérienne sont des cibles intéressantes de par leur spécificité aux cellules procaryotes. [1] Par conséquent, la conception d'inhibiteurs aux protéines MUR-Ligase est devenu au laboratoire un choix idéal car ces cibles sont peu explorées à ce jour [2] et sont potentiellement antibiorésistant grâce à la multi-inhibition vis-à-vis de ces protéines. Notre choix se porte sur les MurC, MurD, MurE et MurF qui catalyse les premières étapes de la chaîne peptidoglycane dans le cytoplasme de la bactérie. Il existe quelques d'exemples de multi-inhibiteurs de Mur Ligase, néanmoins avec des propriétés antibactériennes limitées. [3] Par conséquent, plusieurs approches synthétiques sont envisagées sur la conception d'analogues du substrat naturel contenant un squelette nucléosidiques où les propriétés inhibitrices seront étudiées.

[1] Dhar, S.; Kumari, H.; Balasubramanian D.; Mathee K. *J. Med. Microbiol.* **2018** 67(1), 1-21 [2] (a) Kouidmi, I.; Levesque, R.; Paradis-Bleau, C. *Molecular Microbiology* **2014**, 94(2), 242-253 (b) Nikolaidis, I.; Favini-Stabile, S.; Dessen A. *Protein Science* **2014**, 23(3), 243-259 [3] Warszycki, D.; Mordalski, S.; Kristiansen, K.; Kafel, R.; Sylte, I.; Chilmonczyk, Z.; Bojarski, A. *PLoS ONE* **2013**, 8(12): e84510

## **Modulation des effets de la nicotine et de la clothianidine (néonicotinoïdes) par les voies de régulations PKC via des récepteurs nicotiniques neuronaux d'insecte résistants à l' $\alpha$ -bungarotoxine**

Jean-Noël HOUCHAT et Steeve THANY

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

Les récepteurs à l'acétylcholine de type nicotiniques (nAChRs) des neurones d'insectes sont la cible des insecticides néonicotinoïdes. Cette étude avait pour objectif de caractériser davantage l'implication du calcium et des protéines kinases C (PKC) dans la modulation des effets de la nicotine, agoniste naturel, et de la clothianidine, un néonicotinoïde, à travers deux nAChRs résistants à l' $\alpha$ -bungarotoxine précédemment décrits (Courjaret & Lapied, 2001) : nAChR1, régulé par deux PKC (PKC-1 calcium-dépendante et PKC-2) activées par le diacylglycérol (DAG) et nAChR2, sensible aux variations de calcium externe et interne. Des mesures électrophysiologiques (patch-clamp) ont été menées sur les Dorsal Unpaired Median (DUM) neurones de la blatte (*Periplaneta americana*) en utilisant du DiC8 (1,2 dioctanoyl-sn-glycerol), un analogue du DAG connu pour activer PKC-2, et en modifiant les niveaux extracellulaire et intracellulaire de calcium. Les résultats indiquent que les effets de la nicotine sont modulés par le calcium intracellulaire agissant sur PKC-1, ce qui confirme les résultats antérieurs de Courjaret & Lapied (2001). Les effets de la clothianidine sont quant à eux modulés par les PKC de façon indépendante du calcium, PKC-2 semblant donc être la seule impliquée dans le processus. En conclusion, les voies PKC modulent de manière différente les effets de la nicotine et de la clothianidine sur les nAChRs résistants à l' $\alpha$ -bungarotoxine de neurones isolés d'insectes.

## To a complete kinetics and structural description of the *EchU* chain exchange system

Justine LARGILLIERE<sup>a</sup>, Rémy LE MEUR<sup>b</sup>, David GUINGUENE, Norbert GARNIER<sup>a,c</sup>, Céline LANDON<sup>a</sup>, Agnès F. DELMAS<sup>a</sup>, Martine CADENE<sup>a</sup>, Bertrand CASTAING<sup>a</sup>, Karine LOTH<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup>Centre de Biophysique Moléculaire – UPR 4301 – CNRS – Orléans ; <sup>b</sup>Vanderbilt University – Nashville – Tennessee ; <sup>c</sup>Collegium Sciences et Techniques – Université d’Orléans – Orléans

Found in all bacteria, HU is the major protein of the bacterial nucleoid (~30,000copies/cell). In *Escherichia coli*, this protein exists in three dimeric forms (HU $\alpha_2$ , HU $\beta_2$  and HU $\alpha\beta$ ) that exhibit different biological functions and different thermodynamic properties. *In vitro*, they present a chain exchange mechanism conducting to the spontaneous formation of the heterodimer from the homodimers (HU $\alpha_2$ +HU $\beta_2$ →2HU $\alpha\beta$ ) <sup>[1]</sup>. We undertook structural, dynamical and kinetics studies to characterize this complex mechanism.

The heterodimer formation is strongly temperature dependent and can be described as a three steps mechanism. Firstly, the homodimers change from a “closed” native conformation (N<sub>2</sub>) to an “opened” intermediate conformation (I<sub>2</sub>). It is a reversible and strongly temperature-dependent process. The N<sub>2</sub>/I<sub>2</sub> conformations are in slow exchange on the NMR timescale, which allowed us to determine the populations ratios of each dimeric conformation for a large range of temperature. The N<sub>2</sub>/I<sub>2</sub> transition temperatures are 311 K, 288 K and 312 K for HU $\alpha_2$ , HU $\beta_2$  and HU $\alpha\beta$ , respectively. EXSY (zz exchange) experiments were also used to study the kinetics parameters of this first step. This transition exchange rates for HU $\alpha_2$  are  $k_{N_2 \rightarrow I_2} = 2.7 \text{ s}^{-1}$  and  $k_{I_2 \rightarrow N_2} = 6.8 \text{ s}^{-1}$  at 310 K. Secondly, a transient heterotetramer is formed by the association of two I<sub>2</sub> homodimers. This heterotetramer can only be observed by native mass spectrometry with a population of approximately 1 %. Finally, the tetramer splits into two heterodimers.

This three steps mechanism is a quasi-total second order reaction for which the tetramer formation (step 2) is the limiting step with an observing rate of  $8.5 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  at 293 K. This mechanism is necessary to form the heterodimer with a lower energetic cost than a monomeric pathway.

Moreover, the transient homotetramers have also been observed, which leads us to hypothesize that this whole complex system might be a type of self-chaperoning mechanism for the HU proteins.

<sup>[1]</sup> Ramstein *et al.* (2003)

**Mots-clés** : Conformational equilibrium, Kinetics, Structure, Nuclear Magnetic Resonance

## Projet Influx : modélisation, application et transposition d'un procédé de flux continu vers l'industrie

Mazarine Laurent<sup>1</sup>, Aziza Chairat<sup>2</sup>, Stéphane Bostyn<sup>2</sup>, Sylvain Routier<sup>1</sup>, Frédéric Buron<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans, UMR CNRS 7311, rue de Chartres, BP 6759, 45067 Orléans Cedex 2.

<sup>2</sup>Institut de Combustion, Aérothermique, Réactivité et Environnement (ICARE), 1c, Avenue de la Recherche Scientifique, 45071 CEDEX 2 Orléans, France.

S'inscrivant dans les perspectives de développement durable et de chimie verte, la chimie en flux continu a récemment émergé dans le domaine de la chimie fine, la pharmaceutique et la cosmétique, offrant à ces spécialités industrielles de nombreux avantages : procédés plus efficaces, rapides, fiables, sécuritaires et respectueux de l'environnement. [1]

Ces principaux avantages, comparativement à la chimie conventionnelle, sont issus de la technologie employée puisqu'elle permet : i) de contrôler en toute sécurité l'évacuation de chaleur lors de réactions exothermiques; ii) de reproduire des conditions de réaction avec précision; iii) d'effectuer des réactions plus rapides; iv) de renforcer la sécurité à pressions élevées; iv) de réaliser facilement et rapidement des extrapolations en mode industriel. [2]

Toutefois, malgré ces nombreux avantages, l'adoption de la chimie en flux continu par les partenaires industriels est souvent vécue comme une contrainte car elle impacte à la fois le quotidien, le savoir-faire et les retombées socio-économique de l'entreprise. Pour pallier à ce sentiment, nous avons établi un modèle informatique prédisant le profil de température en fonction des espèces chimiques générées au cours d'une réaction. Ce modèle permettra, *in fine*, d'accélérer l'extrapolation d'échelle et favoriser la transposition au niveau industriel de réactions sensibles comme la genèse et l'utilisation de sel de diazoniums. [3] L'ensemble de nos résultats sera présenté au cours de cette communication.

### Références

1. a) Lee, S. L., et. al. *J. Pharm. Innov.*, **2015**, *10*, 191-199 ; b) Malet-Sanz, L., et. al. *J. Med. Chem.*, **2012**, *55*, 4062 -4098. c) Kappe, C.O., et al. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2015**, *54*, 6688-6728 ; d) Baxendale, I.R., et. al. *Beilstein J. Org. Chem.*, **2015**, *11*, 1194 -1219..
2. a) Seeberger, P., et al. *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, 6384 -6389 ; b) Baxendale, I. R., et. al. *Chem. Commun.*, **2006**, *24*, 2566–2568. c) Jensen, K. F. *Chem. Eng. Sci.*, **2001**, *56*, 293–303.
3. "UK CRHF Incident Report-Supersaturated Diazonium salt causes Fatality". <http://www.crhf.org.uk/incident71.html>.

**Mots-clés** : chimie en flux continu, modélisation, scale-up.

## Diabetes Imaging by visualizing Amylin with Metal-based Probes

Saida Majdoub, Jean-François Morfin, Célia Bonnet, Eva Jakab Tóth

Centre de biophysique moléculaire, UPR4301 CNRS, Orléans

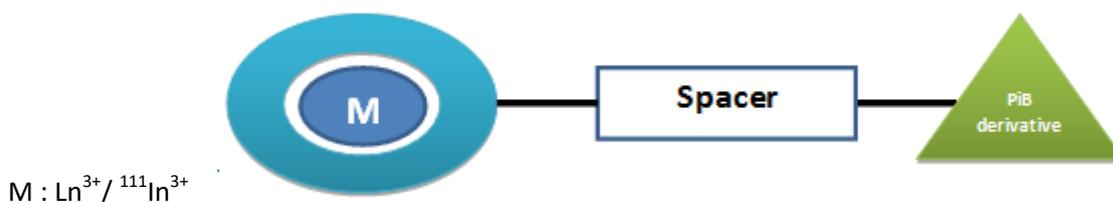
Nowadays, diabetes is considered as one of the main causes of death in the world. The number of affected people has increased to reach 422 millions in Europe and the insulino-resistant type (Type 2) represents 90% of them.

The pathology of Type II diabetes mellitus T2DM is mainly caused by the deposition in the pancreatic islets of IAPP aggregates (islet amyloid polypeptide) also known as Amylin aggregates. IAPP belongs to the amyloid peptides ( $A\beta$ ,  $\alpha$ -synuclein..).

During the last decades, several MRI probes have been developed for amyloid aggregates detection and most of them have been reported for  $A\beta$  aggregates ( $A\beta$ 1-40,  $A\beta$ 1-42) but only few probes have been developed for amylin detection(a)(b)(c).

In this work, we present the synthesis of new Metal-based MRI probes. These probes are divided in three parts : a PiB (d) (Pittsbergh compound B) derivative as a targeting unit, a metal chelate and a spacer to modulate the lipophilic behaviour and the length between these two parts.

The study of the interaction with amylin will be characterised by the determination of LogP, and the dissociation constant  $K_d$ .



### Bibliographic references:

- (a) S. Lacerda et al., « Metal Complexes for Multimodal Imaging of Misfolded Protein-Related Diseases », Dalton Transactions 46, no 42, 2017.
- (b) A. F. Martins, J.-F. Morfin, A. Kubičková, V. Kubiček, F. Buron, F. Suzenet, M. Salerno, A. N. Lazar, C. Duyckaerts, N. Arlicot, D. Guilloteau, C. F. G. C. Geraldès, É. Tóth, ACS Med. Chem. Lett. 2013, 4, 436-440.
- (c) A. F. Martins, J.-F. Morfin, C. F.G.C. Geraldès and É. Tóth J. Biol. Inorg. Chem. 2014, 19, 281-295.
- (d) William E. Klunk et al., « Imaging Brain Amyloid in Alzheimer's Disease with Pittsburgh Compound-B », Annals of Neurology 55, no 3, 2004.

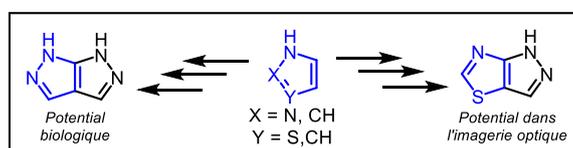
## Systemes pyrazoliques 5:5 fusionnés : des motifs originaux pour des visées thérapeutiques et pour le développement de charpentes fluorescentes

Nicu-Cosmin OSTACHE<sup>1,2</sup>, Marie-Aude HIEBEL<sup>1</sup>, Adriana-Luminița FÎNARU<sup>2</sup>,  
Gérald GUILLAUMET<sup>1</sup>, Franck SUZENET<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université d'Orléans, ICOA, UMR CNRS 7311, 45067 Orléans, France

<sup>2</sup> Université "Vasile Alecsandri" de Bacău, CAIP, 600115 Bacău, Roumanie

Les hétérocycliques aromatiques à 5 chaînons telles que le pyrazole et le thiazole sont très explorées dans la littérature et utilisés dans le développement d'agents cliniques performants.<sup>1,2</sup> Dans une démarche de diversité moléculaire et d'extension de l'exploitation de l'espace chimique, les systèmes fusionnés de type pyrazolo[3,4-*c*]pyrazoles ou pyrazolo[3,4-*d*]thiazoles apparaissent très prometteurs, entre autre pour le traitement et la prévention de diverses maladies et affections.<sup>3,4</sup> En outre, ces bicycles aromatiques sont des précurseurs particulièrement adaptés pour l'optimisation de structures fluorescentes découverte au sein de l'équipe.<sup>5</sup> En s'appuyant sur ce double intérêt, nous avons développé une méthode de synthèse de ces motifs originaux bicycliques et proposé leurs modulations à l'aide de méthodologies simples et efficaces (Schéma 1).



**Schéma 1.** Synthèse de systèmes mixtes pyrazoliques 5:5 fusionnés

**Mots-clés** : pyrazoles, thiazoles, fluorophores, kinases, antimicrobiens

### Références :

1. L. D. Khillare, M. R. Bhosle, A. R. Deshmukh and R. A. Mane, *Med. Chem. Res.* **2015**, *24*, 1380-1386.
2. M. S. Christodoulou, S. Liekens, K. M. Kasiotis, S. A. Haroutounian, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4338.
3. O. Prakash, R. Kumar, R. Sehrawat, *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 435-440.
4. Z. Turgut, C. Yolacan, F. Aydogan, E. Bagdatli, N. Ocal, *Molecules* **2007**, *12*, 2151-2159.
5. F. Suzenet, D. Sirbu, G. Guillaumet, P. Bonnet, *WO2017013135* **2017**, *Chem. Abstr.* **2017**, *166*, 198498

## Design of furanoside-specific neolectins: bioengineering, imaging and diagnosis

Mateja Senicar<sup>1,2</sup>, Pierre Lafite<sup>1</sup>, Svetlana V. Eliseeva<sup>2</sup>, Stéphane Petoud<sup>2</sup>, Richard Daniellou<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Chimie Organique et Analytique, UMR CNRS 7311, Université d'Orléans, Rue de Chartres, BP6759, Orléans Cedex 02, France; mateja.senicar@univ-orleans.fr

<sup>2</sup> Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301, 45071 Orléans, France

Specific targeting of viral and bacterial infections is of major importance for early diagnosis of many diseases. Galactofuranose (Galf) is absent in humans but is found as glycoconjugates in a large number of human pathogens (*Leishmania*, *Mycobacterium*) thus offering possibilities to target this carbohydrate in biotechnological applications using galactofuranosidase (Galf-ase).<sup>1,2</sup> By applying enzyme engineering technology, Galf-ase can be modified to generate various neolectins (carbohydrate-binding proteins).<sup>3,4</sup> In this research Galf-ase and its neolectins were overexpressed, purified and kinetically characterized ( $K_M$ ,  $k_{cat}$ ). Luminescent lanthanide complexes were synthesized, encapsulated in nanoparticles, decorated with appropriate functional groups, and used to bind Galf-ase neolectins. The resulting luminescent conjugates will be tested as probes in near-infrared optical imaging of Galf located on the surface of microorganisms.

**Keywords:** Glycoside hydrolase, Furanosides, Lanthanide, Nanoparticles bioconjugation

### References :

1. E. Matsunaga, Y. Higuchi, K. Maori, N. Yairo, T. Oka, S. Shinozuka, K. Tashiro, M. Izumi, S. Kuhara, K. Takegawa, *PLoS One*, (2015) 1-16.
2. B. Tefsen, A. F. J. Ram, I. van Die, F. H. Routier, *Glycobiology*, **22** (2011) 456-469.
3. P. Peltier, R. Euzen, R. Daniellou, C. Nugier-Chauvin, V. Ferrières, *Carbohydr. Res.*, **34** (2008) 1897-1923.
- L. L. Pedersen, S. J. Turco, *Mol. Life. Sci.*, **60** (2003) 259-266

## Synthèses de spirocycles originaux pour la conception potentielle de nouveaux ligands pour les récepteurs sigma-1

Kossi Efouako SOKLOU, Hamid MARZAG, Karen PLE, Sylvain ROUTIER

Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA), UMR 7311, Université d'Orléans.  
kossi-efouako.soklou@univ-orleans.fr

Les récepteurs sigma-1 sont hautement exprimés dans le système nerveux central [1-3]. Leur activation pourrait engendrer un effet neuroprotecteur contre les maladies neurodégénératives telles que les maladies de Huntington ou d'Alzheimer et la Sclérose Amyotrophique Latérale (SLA) [4, 5]. Plusieurs molécules actives sur ces récepteurs possèdent un carbone quaternaire; c'est l'exemple de l'**halopéridol**, du **PRE084** et du spirocycle **1**. De surcroît, il s'avère que de plus en plus de spirocycles sont proposés dans l'arsenal thérapeutique mais ceux-ci ne sont pas souvent chiraux. C'est l'exemple de l'**Irbesartan**, un antihypertenseur de renom (Figure 1). Au regard des lacunes de l'espace chimique dans ce domaine, nous nous intéressons dans nos travaux aux méthodes générales de synthèse de spirocycles chiraux. Dans notre étude méthodologique, nous nous focalisons sur les spirocycles dont un hétéroatome est directement lié au carbone spiranique. En partant de dérivés de la pipéridone, les substrats adéquats pour la synthèse des hétérospirocycles d'intérêt ont été préparés. Suivant une stratégie de spiranisation catalysée par les métaux de transition, plusieurs métaux ont été testés (Au, Pt, Cu) et les réactions optimisées pour atteindre le meilleur catalyseur. Les méthodes stéréosélectives de synthèse des spirocycles visés seront mises en place ultérieurement en vue d'obtenir les premiers candidats aux tests biologiques.

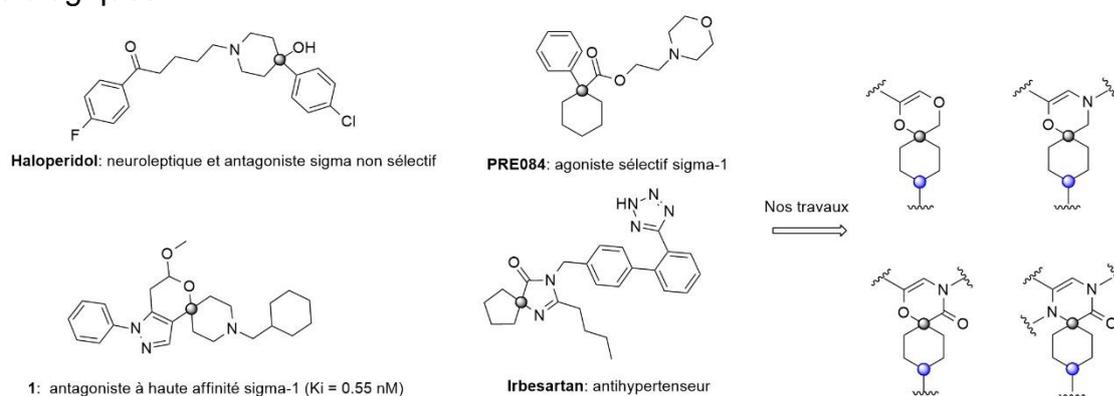


Figure 1: Exemple de molécules possédant un centre quaternaire aliphatique

1. Heroux J. A. *et al.*, *Brain Research*, **1992**. 598, 76-86.
2. Angulo J. A. *et al.*, *Brain Research Reviews*, **1994**. 19, 1-28.
3. Kitaichi K. *et al.*, *Journal of Chemical Neuroanatomy*, **2000**. 20, 375-387.
4. Al-Saif A. F. *et al.*, *Ann Neurol*, **2011**. 70, 913-9.
5. Bolshakova A.V. *et al.*, *St. Petersburg Polytechnical University J: Physics and Mathematics*, **2016**. 2, 31-40.

## Segmentation automatique du joint articulaire pour le diagnostic de la gonarthrose

Nourhene SOULI<sup>1</sup>, Eric LESPESSAILLES<sup>2</sup>, Rachid JENNANE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire I3MTO Université d'Orléans

<sup>2</sup> Nouvel Hôpital Orléans la source

L'os est un tissu vivant se renouvelle en permanence malgré son aspect inerte. Ce phénomène s'appelle le « remodelage osseux ». Dans le cadre de ce processus, un système complexe qui, avec le vieillissement de la population, est de plus en plus sujet à des pathologies invalidantes. Le diagnostic de ces maladies est parfois difficile à établir car les signes qui attirent l'attention sont d'une grande uniformité : douleur, déformation, handicap. Bien qu'associée à l'âge, l'arthrose n'est pas une conséquence directe du vieillissement. C'est une maladie des articulations qui s'apparente à un vieillissement accéléré du [cartilage](#), qui recouvre les extrémités osseuses. Au niveau du genou, l'arthrose (appelée aussi gonarthrose) est définie par la dégénérescence des cartilages de l'articulation femoro-tibiale. Toutefois, au cours de son évolution toutes les structures de l'articulation vont être atteintes. Une détection de cette maladie précoce peut être ralentie ou même arrêtée. Pour cette raison, l'attention est de plus en plus axée sur l'identification des patients à risque élevé de progression de la gonarthrose, ceci est le but de notre étude. Nous utilisons des images radiographiques, qui permettent d'accéder avec une résolution suffisante à la microarchitecture, pour extraire des descripteurs quantitatifs robustes pour la caractérisation de l'arthrose. D'autre part, le critère de jugement principal dans les études thérapeutiques est la mesure minutieuse de l'évolution du pincement d'interligne articulaire évalué pendant 2 à 3 ans. Tout d'abord, la segmentation automatique de la surface articulaire. Notre approche nécessite l'extraction de la zone articulaire sur des radiographies osseuses du genou. Cette dernière est prétraitée afin d'extraire un masque utile pour l'initialisation de l'algorithme des contours actifs. Ensuite la mesure automatique du joint articulaire par carte des distances. Enfin, la validation de la démarche proposée sur différentes bases de données d'images radiographiques du genou.

**Thème** : Prédiction des facteurs de prédictifs de la progression de l'arthrose.

**Mots-clés** : Gonarthrose, cartilage, dégénérescence, segmentation.combinaison.

## **Influenza A derived NS1 protein promotes BMP-2 expression for bone regeneration**

Pinpin Wang<sup>1</sup>, Federico Perche<sup>1</sup>, Lucie Pigeon<sup>1</sup>, Cristine Goncalves<sup>1</sup>, Delphine Logeart<sup>2</sup>, Hervé Petite<sup>2</sup>, Chantal Pichon<sup>1</sup>

1. Centre de Biophysique Moléculaire, UPR 4301 CNRS, Orléans.

2. Laboratory of Bioengineering and Biomechanics for Bone and Articulations, UMR 7052 CNRS, Paris.

Bone defect caused by trauma, cancer and diabetes affects millions of people every year. Messenger RNA therapy is a promising approach to regenerate bone loss through upregulation of proteins such as bone morphogenetic protein 2 (BMP-2). Producing BMP-2 in situ will be less expensive and more continuous than the use of recombinant BMP-2. But in vitro transcription (IVT) single-strand RNA triggers the innate immune defense system leading to the inhibition of IVT RNA. To reduce such effects, chemically modified nucleotides have been proposed but they are costly. The goal of our project is to find a strategy to improve the efficiency of BMP-2 mRNA therapy while reducing the cost. Viruses have developed strategies to avoid host defense during their infection cycle. Influenza A virus non-structure protein 1 (NS1) is an immune evasion protein of Influenza virus that was reported to inhibit INF production and PKR activation. In our project, we designed a polycistronic mRNA encoding BMP-2 and NS1 (BMP2-P2A-NS1). BMP2-P2A-NS1 mRNA formulations will be loaded inside collagen scaffolds that will be used to fill bone nonunion.

We successfully validated the beneficial effect of NS1 expression on mRNA transfection in the mesenchymal stem cell line C3H/10T1/2. The collagen scaffold that will be used as graft was also obtained and fully characterized in terms of morphology, stability and cytotoxicity. The effect of the polycistronic mRNA expressing both BMP2 and NS1 and the in vivo experiments are in progress. We hope that through this strategy, we will potentiate the anabolic effect of BMP-2 mRNA expression thanks to the roles of NS1 protein on the blockade of RNA sensors activities.

## Expression de différentes adipocytokines dans les tissus adipeux et ovariens chez la truie : mise en évidence de l'adipoline et de la vaspine

Alix Barbe<sup>a</sup>, Patrycja Kurowska<sup>b</sup>, Agnieszka Rak<sup>b</sup>, Christelle Ramé<sup>a</sup>, Pascal Froment<sup>a</sup>, Joëlle Dupont<sup>a</sup>

<sup>a</sup>INRA, UMR85, Unité Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly, France.

<sup>b</sup>Département de Physiologie et Toxicologie de la Reproduction, Institut de Zoologie et Recherche Biomédicale, Université Jagellonne de Cracovie, Pologne

Les adipocytokines sont des hormones abondamment exprimées et sécrétées par le tissu adipeux (Kuryszko J, 2016). Cependant, elles sont exprimées aussi par d'autres tissus, dont l'ovaire, dans lequel leur expression est peu connue. Par ailleurs, la vaspine et l'adipoline sont 2 nouvelles adipocytokines, récemment démontrées pour être impliquées dans la régulation de la sensibilité à l'insuline chez l'homme (Tan B, 2008) et le rongeur (Knights A, 2014). Cependant, leurs expressions et fonctions ovariennes restent à déterminer.

L'objectif de notre étude est d'une part de comparer par RT-qPCR l'expression de différentes adipocytokines dans les tissus adipeux mais aussi ovariens de 2 races porcines : la Large White, une race maigre et normo-prolifique (LW) et la Meishan (MS), une race grasse et hyperprolifique. D'autre part, nous avons mis en évidence et analysé l'expression de la vaspine, de son récepteur GPR78 et de l'adipoline, au cours de la folliculogénèse, chez des truies LW prépubères et matures. Dans le tissu adipeux péri-rénal, l'expression du messenger de l'adiponectine est plus élevée chez les LW que chez les MS. Dans les moyens follicules ovariens (4-6 mm), la visfatine est plus élevée chez les LW. Pour la vaspine, l'expression du messenger est supérieure chez les MS alors que son expression protéique est inférieure. Au cours de la folliculogénèse, l'expression de la vaspine dans les follicules ovariens diminue tandis que celle de son récepteur reste stable et celle de l'adipoline augmente. Les profils sont similaires chez les truies prépubères et matures. En conclusion, les adipocytokines sont différentiellement exprimées dans le tissu adipeux et les follicules ovariens chez les truies LW et MS.

**Mots-clés** : adipocytokines, porc, tissu adipeux, ovaire.

## Effets d'extraits de pépins de raisins sur les paramètres métaboliques et reproductifs chez la poule reproductrice de souche chair

Alix Barbe, Christelle Ramé, Namya Mellouk, Christophe Staub, Eric Venturi, Angélique Petit, Karine Anger, Marine Chahnamian, Christophe Rat, Joël Delaveau, Pascal Froment<sup>a</sup>, Joëlle Dupont<sup>a</sup>

<sup>a</sup>INRA, UMR85, Unité Physiologie de la Reproduction et des Comportements, 37380 Nouzilly, France

<sup>b</sup>INRA UE PAO, Unité Expérimentale, Physiologie Animale de l'Orfrasière, 37380 Nouzilly, France

<sup>c</sup>INRA UE PEAT, Unité Expérimentale, Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours, 37380 Nouzilly, France

Les poules reproductrices de type chair, alimentées à volonté et sélectionnées pour une croissance rapide, présentent un engraissement excessif associé à des problèmes de fertilité avec entre autre une désorganisation de la hiérarchie folliculaire. La restriction alimentaire, appliquée par la suite pour rétablir la fertilité, a induit des troubles comportementaux. Afin de réduire l'ingéré alimentaire et l'engraissement tout en maintenant la fertilité, des extraits végétaux sont envisagés comme supplémentation alimentaire. Les extraits de pépins de raisins (EPR), riches en polyphénols, ont démontrés avoir des propriétés anti-oxydantes, bénéfiques pour la fertilité et la réduction de l'engraissement chez l'homme (Jayarathne et al, 2017).

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet d'une supplémentation en EPR sur la croissance, l'engraissement et les paramètres reproductifs. 4 groupes ont été constitués : témoin (A), EPR 0,5% (B) et 1% (C) depuis la croissance et EPR 1% (D) depuis la naissance.

Les poules du lot D ont présenté une réduction du poids corporel et de l'engraissement, déterminé par échographie et dosage plasmatique des triglycérides, inférieur au lot A. En accord avec la littérature, l'adiponectinémie et la chémérinémie sont augmentées dans le lot D. Enfin, le taux de ponte est plus élevé pour le lot A et la fertilité est similaire pour tous les lots. L'expression tissulaire des adipocytokines, le niveau du stress oxydatif dans le plasma, les œufs et les tissus ainsi que les effets sur la descendance restent à évaluer. En conclusion, une supplémentation de 1% d'EPR dès le démarrage réduit l'engraissement et la production d'œufs sans modifier la fertilité.

**Mots-clés** : pépins de raisins, poule, métabolisme, fertilité.

## Lipids metabolism in small and large antral ovarian follicles

Priscila BERTEVELLO<sup>1</sup>, Ana-Paula TEIXEIRA-GOMES<sup>2</sup>, Virginie MAILLARD<sup>1</sup>, Marie-Claire BLACHE<sup>1</sup>, Sebastien ELIS<sup>1</sup>, Valérie LABAS<sup>1,2</sup>, and Svetlana UZBEKOVA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, <sup>2</sup> Plateforme CIRE, INRA Nouzilly

In bovine reproductive biotechnologies, ovarian follicular size is one of limiting factors to select the oocytes, which are competent to in vitro embryo production. Oocyte development and final growth is strongly supported by surrounding follicular environment: theca (TH) and granulosa cells (GC) and follicular fluid (FF). **Objective** of this study was to compare lipid content and lipid metabolism gene regulation in healthy antral bovine follicles of different size. TH, GC and FF were collected from 12 individual small follicles (SF) and 12 large follicles (LF) with average size 5.1 mm and 12.8 mm, respectively. Lipid profiling of TH, GC and FF performed by MALDI-TOF mass spectrometry has revealed 285, 241 and 224 lipid species, respectively. Relative abundance of lipid species significantly varied between SF and LF: 46% of detected species was differential in FF, 6.6% in TH and 12.5% in GC (ANOVA, Benjamini-Hochberg correctin,  $p < 0.05$ ). Nile Red staining performed on 10  $\mu\text{m}$  frozen ovary sections has revealed an increase of total lipid level in LF as compared to SF, with progressive decrease of TH/GC total lipid abundance ratio through follicular growth. Expression of 12 candidate genes was measured by real time PCR; *LPL* and *GPX4* showed different expression level between TH and GC whatever the size ( $p < 0.05$ ). In TH, genes *CD36* and *PLIN2* were overexpressed in SF; In GC, *CYP11* and *GPX4* were higher expressed in LF ( $p < 0.05$ ). Therefore, lipids accumulate in TH ad GC along follicular growth with lipoprotein uptake higher in TH and antioxidant activity in higher GC. FA transport and lipid droplet formation were more intense in TH of SF. In conclusion, SF have higher lipid metabolism activity resulted in increased lipid accumulation and steroidogenesis by follicular cells of larger follicles. FF's lipid content changed in large follicle and thus may affect oocyte competence.

**Mots-clés:** Ovarian follicle; Lipid metabolism; Bovine.

## Expression des adipokines dans le liquide séminal de sujets à poids normal

Bongrani A<sup>1</sup>, Elfassy Y<sup>2</sup>, Brun JS<sup>3</sup>, Ramé C<sup>1</sup>, Mellouk N<sup>1</sup>, Berthaut I<sup>2</sup>, Fellahi S<sup>2</sup>, Bastard JP<sup>2</sup>, Levy R<sup>2</sup>, Vasseur C<sup>3</sup>, Froment P<sup>1</sup> et Dupont J<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR 85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Centre INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly

<sup>2</sup> Service de Biologie de la Reproduction et UF Biomarqueurs inflammatoires et métaboliques, Hôpital Tenon, AP-HP, UPMC Université Paris 06, Inserm UMRS 938, Centre de Recherche Saint-Antoine, IHU ICAN, Paris

<sup>3</sup> Centre AMP Pôle Santé Léonard de Vinci, 37170 Chambray-lès-Tours

L'infertilité représente un problème de santé publique non négligeable et un facteur causal masculin est retrouvé dans 20 à 50% des cas. Bien que chez l'homme les études concernant la relation IMC-paramètres spermatiques soient rares, l'association entre obésité et hypofertilité masculine n'est plus à démontrer. Notre hypothèse est que les adipokines produites par le tissu adipeux puissent interférer avec la fonction gonadique. Diverses d'entre elles ont déjà été détectées dans le liquide séminal (LS) et leur concentration semble corrélée avec certains paramètres morpho-fonctionnels spermatiques. L'objectif de notre étude était, donc, d'analyser le profil d'expression des adipokines dans le LS, en le comparant à celui du plasma sanguin (PS). 70 hommes normo-poids (IMC 20-25 kg/m<sup>2</sup>) recourant à une procédure de PMA dans le cadre d'une infertilité de couple ont été recrutés dans 2 différents Centres (protocoles FERTIPROTECT, Tours, n=32, et METASPERME, Paris, n=38). Parmi eux, seulement les sujets ayant un spermogramme normal selon les recommandations OMS de 2010 ont été retenus pour les analyses. D'abord, le profil d'expression de 58 adipokines était analysé par adipokine-array sur les échantillons de LS et PS de 7 patients. Les adipokines d'intérêt étaient ensuite quantifiées par Western-Blot (n=19), confirmant que visfatine (VISF), FGF-19, VEGF, IL-8, HGF et CCL2 étaient plus concentrées dans le LS par rapport au PS, ou ELISA (n=25), retrouvant des concentrations de VISF et IL-6 plus élevées dans le LS et, inversement, une expression prédominante au niveau du PS pour adiponectine (ADP), leptine, chémérine et résistine. La présence d'ADP, VISF, vaspine et VEGF au niveau du testicule humain était de plus confirmée par immunohistochimie (n=8). En conclusion, le profil d'expression des adipokines au niveau du LS diffère de celui du PS. Certaines adipokines, dont des marqueurs reconnus de l'inflammation, sont exprimées principalement dans le LS, suggérant que ces molécules puissent être régulées de façon différente dans le système reproductif masculin et jouer un rôle significatif dans la régulation des fonctions spermatiques et de la fertilité masculine.

**Mots clés** : adipokines, fertilité masculine, localisation testiculaire.

*Actes du 31<sup>ème</sup> Colloque BIOTECHNOCENTRE, Seillac 11-12 Octobre 2018*

## Expression ovarienne des adipokines dans le syndrome des ovaires polykystiques : caractérisation du profil ECHO

Bongrani A<sup>1</sup>, Mellouk N<sup>1</sup>, Ramé C<sup>1</sup>, Cornuau M<sup>2</sup>, Guerif F<sup>2</sup>, Froment P<sup>1</sup> et Dupont J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR 85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA Centre Val de Loire, 37380 Nouzilly.

<sup>2</sup>Service de Médecine et Biologie de la Reproduction, CHRU Bretonneau, 37000 Tours.

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) représente la pathologie endocrinienne la plus fréquente chez la femme en âge de procréer. Initialement il était diagnostiqué devant la présence d'une anovulation et d'une hyperandrogénie clinique et/ou biologique (NIH 1990). Depuis la Conférence de Consensus de Rotterdam (ESHRE/ASRM 2003), la démonstration échographique d'ovaires polykystiques (ECHO) a été introduite comme critère supplémentaire, bien que non nécessaire, pour le diagnostic (posé en présence de 2 critères sur 3). Malgré quelques résultats discordants, la condition ECHO semble, *per se*, associée à des taux plus élevés d'androgènes et à une majeure insulino-résistance. Le rôle des adipokines dans la régulation de la fonction reproductive étant reconnu, notre objectif était, donc, de caractériser l'expression de certaines de ces molécules dans le liquide folliculaire (LF) et les cellules de la granulosa (CG) de femmes présentant un SOPK (n=20), uniquement la condition ECHO (n=19) ou une autre cause d'infertilité (Témoins, n=22). Chaque groupe comprenait en égale proportion des patientes normo-poids (IMC 18-25 kg/m<sup>2</sup>) et obèses (IMC >30 kg/m<sup>2</sup>). Pour adiponectine et résistine, l'expression ovarienne semblait être modulée principalement par le statut pondéral, comparablement à ce qui est observé au niveau plasmatique. En revanche, l'expression de chémérine, omentine et apeline, bien que plus importante chez les patientes obèses, différait également selon la condition pathologique, étant prédominante chez les femmes SOPK et ECHO par rapport aux Témoins. Une différence significative entre les groupes SOPK et ECHO (avec des valeurs plus élevées dans le premier) était mise en évidence uniquement pour l'omentine. De façon intéressante, ces résultats étaient retrouvés dans LF et CG. En conclusion, chez les femmes SOPK on observe une augmentation de l'expression ovarienne de certaines adipokines. La régulation de ces molécules semble différer dans la condition ECHO, suggérant qu'elle présente des caractéristiques physiopathogéniques propres, lui conférant, entre autres, un certain risque métabolique et reproductif.

**Mots-clés** : syndrome des ovaires polykystiques, adipokines, obésité, follicules ovariens.

## Mesure du développement du poulet de chair parental par des techniques d'imagerie non invasives

Jérémy Grandhayé<sup>1</sup>, François Lecompte<sup>1</sup>, Christophe Staub<sup>2</sup>, Eric Venturi<sup>2</sup>, Ingrid Plotton<sup>3</sup>, Estelle Cailleau-Audouin<sup>4</sup>, Patrice Ganier<sup>5</sup>, Christelle Ramé<sup>1</sup>, Joëlle Dupont<sup>1</sup>, Pascal Froment<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA UMR85, F-37380 Nouzilly, France. <sup>2</sup> INRA – Unité Expérimentale de Physiologie Animale de l'Orfrasière UEPAO 1297, Nouzilly, France. <sup>3</sup> Hospital Mere Enfant, Bron, France. <sup>4</sup> INRA, UMR BOA, Nouzilly, France. <sup>5</sup> INRA – Unité Expérimentale du Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours UEPEAT, Nouzilly, France

Nous avons développé des méthodes peu invasives pour suivre la composition corporelle d'une lignée parentale de poulets de chair (Cobb500, mâles et femelles) de l'éclosion à l'âge adulte. Nous avons évalué la cinétique d'engraissement, la croissance et la qualité musculaire et osseuse, les paramètres de reproduction et des marqueurs du métabolisme des animaux en utilisant l'imagerie médicale (échographie, CT-scan) et l'analyse de petits échantillons sanguins par ELISA et spectrométrie de masse. Les poulets de chair ont été élevés selon les recommandations du sélectionneur. L'échographie a été réalisée sur animaux vigiles et l'utilisation du CT-scan chez les mêmes animaux endormis a permis de confirmer les mesures. Nous avons pu montrer 2 cinétiques d'engraissement en fonction du sexe. À partir de la puberté (20 semaines d'âge), peu avant le début de la ponte, les femelles avaient 1,6 fois plus de tissu adipeux que les mâles ( $P < 0,001$ ). La structure osseuse est également différente, puisque le rapport os / poids corporel est 30% plus faible chez les femelles que les mâles à l'âge adulte de 32 semaines ( $P < 0,001$ ). En conclusion, l'imagerie permet de suivre la composition corporelle de poulets de chair parentaux et d'avoir une alimentation ou une sélection optimale sans utiliser les méthodes actuelles plus invasives ou peu précises.

**Mots-clés** : Développement, Imagerie, poulet chair, Femelles, Mâles

## **AdipoRon, un agoniste mimétique de l'adiponectine, réduit la prolifération des cellules de granulosa**

Sandy Hmadeh<sup>1,2</sup>, Jérémy Grandhaye<sup>1</sup>, Charlène Rouillon<sup>1</sup>, Sarah Chaussard<sup>1</sup>, Joëlle Dupont<sup>1</sup>, Pascal Froment<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France; CNRS, UMR7247, F-37380 Nouzilly, France; Université François Rabelais de Tours, F-37041 Tours, France; IFCE F, 37380 Nouzilly, France.

<sup>2</sup>Faculty of Science, Lebanese University, Beirut, Lebanon.

Le tissu adipeux est connu pour être le plus grand organe endocrinien du corps, avec la capacité de produire plus d'une centaine d'hormones, dont l'adiponectine qui agit sur la régulation du métabolisme et est sécrétée en quantité élevée. Plusieurs études ont montré qu'il existe un lien potentiel entre l'obésité, et les niveaux excessivement bas d'adiponectine et le cancer de l'ovaire. Le cancer de l'ovaire est la cinquième cause de décès chez les femmes et le dixième cancer le plus fréquent chez les femmes aux États-Unis. L'AdipoRon, est une petite molécule synthétique qui mime l'activité de l'adiponectine. Son action sur les cellules ovariennes est peu connue. Nous avons montré que la stimulation in vitro d'AdipoRon inhibait la prolifération, et la migration d'une lignée cancéreuse de granulosa. Elle modifie les voies de production d'énergie en diminuant l'incorporation de glucose et stimulant la glycolyse. Le traitement par AdipoRon a activé la phosphorylation de la voie AMPK tout en inhibant la phosphorylation de la voie Akt. En conclusion, nos résultats suggèrent que les traitements médicamenteux à base d'agoniste à l'adiponectine peuvent représenter une approche nouvelle ou supplémentaire dans le traitement des cellules cancéreuses ovariennes

**Mots-clés** : AdipoRon, Adiponectine, cancer ovarien, cellules de granulosa.

## Définition des cibles chromosomiques de PGBD5 dans les neurones pyramidaux du système nerveux central des vertébrés

Laura Helou, Linda Beauclair, Florian Guillou, Benoît Piégu et Yves Bigot

Équipe Plasticité Génomique et Expression Phénotypique, UMR PRC, INRA, Nouzilly

Les éléments transposables sont des éléments génétiques mobiles présents dans presque tous les génomes eucaryotes et procaryotes. Ils co-évoluent avec leurs hôtes et ont participé au façonnage de leur environnement génomique au cours de leur évolution. Ils sont en outre à l'origine de nouveaux gènes dérivés de séquences codantes de transposon par domestication. La transposase domestiquée *piggyBac*, PGBD5, est très conservée depuis l'origine des vertébrés. Elle est totalement fonctionnelle et s'exprime spécifiquement dans le système nerveux central et plus précisément dans les neurones pyramidaux de l'hippocampe, de l'amygdale et du bulbe olfactif qui sont respectivement impliqués dans les mémoires spatiale, émotionnelle et olfactive. La conservation élevée de PGBD5 chez les vertébrés suggère que sa fonction et ses cibles chromosomiques le seraient également. L'objectif de ma thèse est d'élucider les motifs d'ADN chromosomiques auxquels se lie PGBD5 dans les neurones sains et ainsi d'accéder aux types de réarrangements qu'elle pourrait catalyser à partir de ceux-ci. Pour cela, il sera nécessaire d'identifier les sites de liaison de PGBD5 dans le génome de l'homme et de la souris en terme de diversité et de nombre. Ma stratégie est d'accéder aux sites de liaisons de PGBD5 en développant deux approches complémentaires : des CHIP-Seq contre PGBD5 et une recherche *in silico* de motifs pairés correspondant à des extrémités de transposons *piggyBac*. L'étude de la conservation des sites de liaison de PGBD5 sera ensuite étendue à l'ensemble des vertébrés. Mes résultats permettront de retracer l'évolution de PGBD5 et de ses cibles de liaisons et d'éclairer leurs rôles potentiels dans les neurones.

**Mots-clés** : Domestication, Transposase, PiggyBac

## Microphysique de l'olfaction antennaire chez le papillon *Samia cynthia*

Mourad Jaffar-Bandjee<sup>1,2</sup>, Thomas Steinman<sup>1</sup>, Gijs Krijnen<sup>2</sup>, Jérôme Casas<sup>1</sup>

1, IRBI, Université de Tours

2, RAM, University of Twente

Chez de nombreux papillons, l'olfaction joue un rôle primordial dans la recherche de partenaire sexuel. C'est notamment le cas chez *Samia cynthia*, un papillon de la famille des Saturnidés. Le papillon femelle relâche d'infimes quantités de phéromones sexuelles que le papillon mâle doit détecter et utiliser pour localiser la femelle. Pour cela, le mâle possède des antennes complexes composées de plusieurs éléments dont les dimensions couvrent une large gamme d'ordres de grandeur : le flagelle central est long d'un centimètre alors que les sensilles (où sont présents les détecteurs chimiques de phéromones) ne font que 150 $\mu$ m de long pour 3 $\mu$ m de diamètre. La première étape dans la détection des molécules de phéromone est de capturer ces molécules présentes dans l'air. Etant donné leur faible concentration, nous avons voulu savoir comment la géométrie de l'antenne lui permettait de capturer efficacement ces molécules. Pour pouvoir reproduire et étudier les antennes, nous avons dû diviser l'antenne en deux niveaux : le flagelle et les ramis d'une part, et un rami avec ses sensilles d'autre part. Nous avons ensuite utilisé une technique appelée Particle Image Velocimetry pour visualiser et mesurer les flux d'air à travers la structure de l'antenne. Des modèles de transport de masse ont ensuite été utilisés pour déterminer le taux de capture des sensilles.

## **Vaspin (VASP) expression is *in vitro* regulated by several factors in porcine ovarian follicles**

Patrycja Kurowska<sup>a</sup>, Alix Barbe<sup>b</sup>, Justyna Chmielińska<sup>a</sup>, Joëlle Dupont<sup>b</sup>, Agnieszka Rak<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Physiology and Toxicology of Reproduction, Institute of Zoology, Jagiellonian University in Krakow, Krakow, Poland <sup>b</sup>INRA, Unité Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Nouzilly, France.

VASP (Visceral Adipose-SPECific), a newly identified adipokine, is a member of serine protease inhibitor family. Elevated serum concentrations of VASP are correlated with obesity and impaired insulin sensitivity, however there are no data about VASP role in the female reproduction. Our previously data indicated that VASP expression was decreased in porcine ovarian follicles during estrus cycle. Hence, we hypothesized that some local factors could change their expression.

The purpose of the study was to investigate *in vitro* effect of insulin, insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and steroid hormones: progesterone (P4), testosterone (T) and estradiol (E2) on VASP protein expression.

Medium follicles (4-6 mm) at 10-12 of the estrous cycle were obtained from mature (7-8 months) sows at a local abattoir, and then granulosa and theca cells were isolated and co-culture for 24 h. Then insulin (10-100 ng/ml), IGF-1 (10-100 ng/ml), steroids ( $10^{-8}$ - $10^{-6}$  M) were added for 48 h and VASP protein expression was measured by Western blot. Moreover, using ELISA kits, level of VASP concentration in culture medium was analyzed. Statistical analysis was performed using Graph Pad Prism 5 and a one-way ANOVA test.

We demonstrated that insulin and steroids at all doses significantly increased protein expression of VASP ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ), while IGF-1 at 10 and 50 ng/ml stimulated VASP expression ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). This results was confirmed in VASP concentration in culture medium ( $p < 0.05$ ).

**Mots-clés** : adipokine, pig, adipose tissue, ovary.

## Rôle du gène *BCAR4* dans la fertilité femelle : expression et approche fonctionnelle *in vivo* chez le lapin

Maud Peyny<sup>1</sup>, Peggy Jarrier-Gaillard<sup>1</sup>, Véronique Cadoret<sup>1-2</sup>, Laurent Boulanger<sup>3</sup>, Nathalie Daniel<sup>3</sup>,  
Véronique Duranthon<sup>3</sup>, Sebastien Lavillatte<sup>4</sup> & Rozenn Dalbies-Tran<sup>1</sup>

<sup>1</sup>. UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA, CNRS, IFCE, Université de Tours, 37380  
Nouzilly

<sup>2</sup>. CHU Bretonneau, Médecine et Biologie de la Reproduction-CECOS, 37044 Tours

<sup>3</sup>. UMR Biologie du Développement et Reproduction, INRA-ENVA, 78352 Jouy-en- Josas

<sup>4</sup>. PlateForme d'Infectiologie Expérimentale, INRA, 37380 Nouzilly

Nous avons précédemment découvert *BCAR4* (*Breast Cancer Anti-estrogen Resistance 4*) comme un gène exprimé préférentiellement dans l'ovocyte et l'embryon précoce bovins. Le gène *BCAR4* est conservé chez les primates et plusieurs espèces domestiques comme le porc, le cheval ou le lapin, soit des espèces chez qui l'embryon n'active son génome qu'après plusieurs divisions cellulaires ; au contraire, il n'est pas retrouvé dans le génome des rongeurs dont l'activation est plus précoce. *BCAR4* est également un marqueur de certains cancers, notamment du sein, d'où son nom. Le profil d'expression temporel chez le bovin, la présence chez les espèces à activation embryonnaire tardive et les propriétés oncogéniques chez l'homme suggéraient que *BCAR4* est impliqué dans les premières divisions cellulaires de l'embryon, ce qui a été confirmé sur des embryons bovins produits *in vitro*.

Afin d'appréhender le rôle du gène *BCAR4 in vivo*, une lignée de lapins porteurs d'une altération du gène *BCAR4* a été produite. Des animaux de génotype normal, ou porteurs de la modification à l'état homozygote ou hétérozygote sont nés selon le ratio attendu. Ils sont viables et paraissent en bonne santé. L'efficacité de l'altération génétique a été démontrée par transcription inverse couplée à la PCR : l'expression de *BCAR4* est quasiment abolie dans les follicules ovariens des animaux homozygotes comparés aux animaux hétérozygotes ou de génotype normal. Ces femelles sont évaluées sur plusieurs paramètres liés à la reproduction (activité ovarienne, résultat de l'insémination et éventuellement taille de portée) pour estimer le rôle de *BCAR4* dans la fertilité *in vivo*.

**Mots-clés** : reproduction, ovaire, ovocyte, embryon

## **Impact de la sélection d'un comportement de peur sur l'anatomie de l'encéphale de caille. Utilisation de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) *ex vivo***

Marine Siwiaszczyk<sup>1</sup>, Raïssa Yebga Hot<sup>2</sup>, Cyril Poupon<sup>2</sup>, Ludovic Calandreau<sup>1</sup>, Baptiste Mulot<sup>3</sup>, Scott Love<sup>1</sup>, Elodie Chaillou<sup>1</sup>

1: PRC, INRA, CNRS, IFCE, Université de Tours, Nouzilly, France

2: NeuroSpin, CEA, Gif-Sur-Yvette, France

3: ZooParc de Beauval & Beauval Nature, Saint-Aignan, France

L'existence des lignées de cailles STI (Short Tonic Immobility) et LTI (Long Tonic Immobility), issues d'une sélection génétique divergente sur la durée d'immobilité tonique (IT), offre une opportunité unique d'étudier la variabilité anatomique de l'encéphale corrélée à différentes réponses au comportement de peur. Les cailles STI se révèlent moins peureuses que les cailles LTI dans des situations effrayantes (néophobie). Une des hypothèses avancées est que la différence de comportement entre les deux lignées serait corrélée à des différences de connectivité des structures impliquées dans le circuit fonctionnel associé. Des cerveaux de cailles mâles adultes LTI (n=10) et STI (n=10) ont été imagés *ex vivo* avec une IRM 11,7T (NeuroSpin). Les données décrivant la neuroanatomie du cerveau de caille étant rares et incomplètes, nous avons fait un premier travail comparatif avec des données IRM cérébrales décrites chez d'autres oiseaux. Comme le système visuel joue un rôle important dans la perception de l'environnement, nous avons d'abord réalisé l'identification et la segmentation de structures tels que les nerfs optiques, le chiasma optique et le tectum. Dans ce dernier cas, nous avons observé des contrastes différents sur les IRM qui pourraient correspondre aux couches de cellules identifiées sur des coupes d'encéphales de cailles, colorées au violet de Crésyl. Une fois toutes les structures cérébrales segmentées, nous pourrions construire un atlas IRM probabiliste du cerveau de caille et calculer les cartes de connectivité entre les différentes structures grâce à l'utilisation de la tractographie. Nous chercherons ensuite à vérifier que les connectivités des structures du réseau neuronal de la peur diffèrent entre les cailles STI et LTI, en cohérence avec les données comportementales et physiologiques.

**Mots clés** : oiseau, coping style, connectome, émotion

## Concentration-effect relationships of therapeutic monoclonal antibody rituximab in rheumatoid arthritis

Amina Bensalem<sup>1</sup>, Denis Mulleman<sup>1,2</sup>, Gilles Thibault<sup>1,3,4</sup>, Nicolas Azzopardi<sup>1,4</sup>, Gilles Paintaud<sup>1,5</sup>, Philippe Goupille<sup>1,2</sup>, David Ternant<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>EA 7501 GICC, University of Tours, Tours, France,

<sup>2</sup> Department of Rheumatology, CHRU de Tours, Tours, France,

<sup>3</sup> Laboratory of Immunology, CHRU de Tours, Tours, France,

<sup>4</sup>CNRS ERL 7001, Tours, France,

<sup>5</sup>Laboratory of Pharmacology-Toxicology, CHRU de Tours, Tours, France.

**Objectives.** This study aimed at analyzing the contribution of CD4+ T cell decrease in the clinical response in RA patients treated with RTX.

**Methods.** In this retrospective monocentric observational study, 52 patients were assessed. All patients had received 2 infusions of 1000 mg of RTX 2 weeks apart. Disease activity score in 28 joints (DAS28) was used as clinical endpoint. RTX serum concentrations, peripheral blood CD4+ counts, and DAS28 were measured before and after each RTX infusion and at 3, 6 and 9 months after last infusion. A population PK-PD model was developed to estimate the probability of CD4+ counts decrease.

**Results.** The probability of CD4+ counts decrease was estimated at 0.75. Patients with a CD4+ decrease had a higher  $\Delta$ DAS28 than the patients without CD4+ decrease, with a maximal  $\Delta$ DAS28 of -1.34 and -0.64 in patients with and without CD4+ cell decrease, respectively. Moreover, at M6, patients with CD4+ cell decrease had a median DAS28 of 3.5 (IQR: 2.7 - 4.4), among them 39.5 % with low disease activity ( $\text{DAS28} \leq 3.2$ ) and 22.3 % in remission ( $\text{DAS28} < 2.6$ ). At the same time point, median DAS28 of patients without CD4+ cell decrease was 4.3 (IQR: 3.5 – 5.1), among them 17.7 % with low disease activity, and 8.6 % in remission.

**Conclusions.** This is the first study to quantify the contribution of CD4+ T cell decrease to the clinical response in RA patients treated with RTX.

## **Analyses qualitatives et quantitatives de solutions thérapeutiques par spectroscopies infrarouge et Raman**

Alaa A. Makki<sup>1</sup>, Franck Bonnier<sup>\*1</sup>, Renaud Respaud<sup>2</sup>, Ali Tfayli<sup>3</sup>, Elhadi Mohammed<sup>4</sup>, Igor Chourpa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université de Tours, EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France

<sup>2</sup>Université de Tours, UMR 1100, CHRU de Tours, Service de Pharmacie, F-37032 Tours, France

<sup>3</sup>U-Psud, University of Paris-Saclay, Lip (Sys)<sup>2</sup>, EA7357, UFR-Pharmacy, Châtenay-Malabry, France

<sup>4</sup>Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, University of Gezira, Sudan

Les spectroscopies vibrationnelles sont des techniques de caractérisation de la matière par le biais de l'interaction rayonnement incident / échantillon. Elles délivrent des signatures spectrales qui renseignent sur la composition moléculaire de manière non destructive mais surtout sans aucun marquage. Dans cette étude, les spectroscopies d'absorption infrarouge et de diffusion Raman ont été appliquées à l'analyse de 3 solutions thérapeutiques TEVA®, MYLAN®, CERUBIDINE® qui contiennent respectivement de la doxorubicine, epirubicine et daunorubicine. En tenant compte des concentrations utilisées en routine clinique pour le traitement des patients, des gammes de dilutions ont été préparées afin d'évaluer les performances quantitatives (prédiction d'une concentration correcte) et discriminatives (identification de la molécule en solution) des spectroscopies vibrationnelles. Les données collectées sont complexes et des méthodes statistiques sont nécessaires afin d'extraire l'information utile. Des approches multi-vairées de type PLS (Partial Least Square Regression) et PCA-FDA (Principal Component Analysis – Factorial Discriminant Analysis) démontrent que les techniques sont précises (RMSEV 0.0127 g.L<sup>-1</sup>) et spécifiques (classification > 99%), donc potentiellement adaptées aux procédures hospitalières de contrôle qualité.

**Mots-clés :** Spectroscopies infrarouge et Raman, analyses multivariées, anticancéreux, contrôle qualité

## Optimisation de la formulation d'anticorps monoclonaux pour la nébulisation

Alexie Mayor<sup>1,2,3</sup>, Béatrice Thibert<sup>3</sup>, Renaud Respaud<sup>1,2,4</sup>, Sylvain Huille<sup>3</sup>, Héloïse Audat<sup>3\*</sup>,  
Nathalie Heuzé-Vourc'h<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Université de Tours, Tours, France;

<sup>2</sup>Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, U1100, INSERM, Tours, France;

<sup>3</sup>Formulation Development Unit – Biotherapeutics, Sanofi Aventis Recherche Développement, Vitry-sur-Seine, France ;

<sup>4</sup>CHRU de Tours, Service de Pharmacie, Tours, France.

\* Ces auteurs co-encadrent la thèse

Les anticorps monoclonaux (AcM) sont en plein essor et pourraient améliorer la prise en charge des maladies respiratoires qui représentent un problème majeur en santé public. L'administration des AcM sous la forme d'un aérosol directement dans le poumon par inhalation est une approche pertinente, comme l'ont montré les travaux antérieurs de l'équipe mais reste complexe compte tenu de l'instabilité des AcM durant l'aérosolisation. En effet, l'aérosolisation induit des stress (température, forces de cisaillement, interface air/liquide...) qui peuvent conduire à la dégradation physique et chimique de l'AcM.

La stabilité pouvant être améliorée par la formulation, cette thèse est consacrée à l'optimisation de la formulation des AcM aérosolisés. L'objectif est de mettre en évidence des paramètres de la formulation (tampons, excipients...) permettant d'augmenter la stabilité des AcM aérosolisés afin de pouvoir généraliser cette approche. Pour cela, l'étude est réalisée sur cinq AcM fournis par Sanofi et deux générateurs d'aérosols commerciaux.

La stabilité des AcM dans les différentes formulations est évaluée en comparant leur niveau d'agrégation avant et après aérosolisation par plusieurs techniques d'analyse. La diffusion dynamique de la lumière (DLS), la chromatographie d'exclusion stérique (SEC-HPLC) et la microscopie en flux permettent d'analyser les différentes populations d'agrégats d'AcM selon leur taille.

## Synthesis and structure-activity relationships of new Pim-1 kinase inhibitors derived from a new quinoxaline scaffold

Bruno OYALLON <sup>a</sup>, Marie Brachet-Botineau <sup>b,c</sup>, Cédric Logé <sup>d</sup>, Pascal Bonnet <sup>e</sup>, Mohamed Souab <sup>f</sup>, Thomas Robert <sup>f</sup>, Sandrine Ruchaud <sup>f</sup>, Stéphane Bach <sup>f</sup>, Pascal Berthelot <sup>g</sup>, Fabrice Gouilleux <sup>b</sup>, Marie-Claude Viaud-Massuard <sup>a</sup>, Caroline Denevault-Sabourin <sup>a</sup>.

<sup>a</sup> EA 7501 GICC - ERL 7001 CNRS « Groupe Innovation et Ciblage Cellulaire », Team Innovation Moléculaire et Thérapeutique, University of Tours, F-37200 Tours, France ; <sup>b</sup> <CNRS ERL 7001 LNOx « Leukemic Niche and redOx metabolism » - EA 7501 GICC, University of Tours, F-37000 Tours, France ; <sup>c</sup> CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, F-37044 Tours, France ; <sup>d</sup> Université de Nantes, Nantes Atlantiques Universités, Département de Chimie Thérapeutique, Cibles et médicaments des Infections et du Cancer, IICIMED - EA 1155, Institut de Recherche en Santé 2, F-44200 Nantes, France ; <sup>e</sup> UMR CNRS - University of Orléans 7311, Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA), University of Orléans, F-45067 Orléans, France ; <sup>f</sup> Sorbonne Universités, USR 3151 CNRS/UPMC, Plateforme de criblage KISS<sup>f</sup> (Kinase Inhibitor Specialized Screening facility), Station Biologie, Place Georges Teissier, F-29688 Roscoff, France ; <sup>g</sup> UMR-S 1172 - JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, University of Lille, Inserm, CHU Lille, F-59000 Lille, France.

We identified a new series of quinoxaline-2-carboxylic acid derivatives, targeting the human proviral integration site for Moloney murine leukemia virus-1 (*HsPim-1*) kinase. Seventeen analogues were synthesized providing useful insight into structure-activity relationships studied. Docking studies realized in the ATP pocket of *HsPim-1* are consistent with an unclassical binding mode of these inhibitors. The lead compound **1** was able to block *HsPim-1* enzymatic activity at nanomolar concentrations ( $IC_{50}$  of 74 nM), with a good selectivity profile against a panel of mammalian protein kinases. In vitro studies on the human chronic myeloid leukemia cell line KU812 showed an antitumor activity at micromolar concentrations. As a result, compound **1** represents a promising lead for the design of novel anticancer targeted therapies.

## Synthesis and biological evaluation of inhibitors targeting STAT5 proteins in myeloid leukemias

Marion Polomski (1), Marie Brachet-Botineau (2,3), Ludovic Juen (1), Christophe Marot (1), Fabrice Gouilleux (2), Marie-Claude Viaud-Massuard (1), Gildas Prié (1).

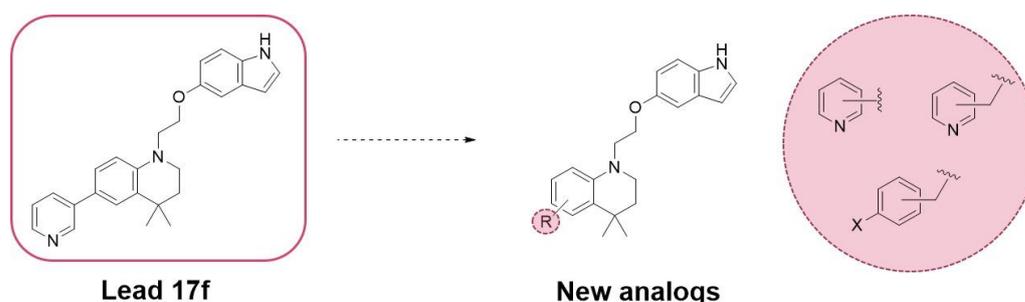
<sup>1</sup> EA7501-ERL7001 GICC-CNRS, IMT, Université de Tours - Faculté de Pharmacie - 31 avenue Monge -Tours.

<sup>2</sup> EA7501-ERL7001 GICC-CNRS, LNOx, Université de Tours - Faculté de Médecine - 10<sup>bis</sup> bvd Tonnellé - Tours.

<sup>3</sup> CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, 2 bvd Tonnellé - Tours.

Chronic myelogenous leukemia (CML) is a myeloproliferative disease that affects hematopoietic stem cells (HSC). It mainly involves the t(9,22) genomic translocation-derived BCR-ABL fusion oncogene which codes for the tyrosine kinase BCR-ABL. Bcr-Abl activates the transcription factors STAT5a and STAT5b (Signal Transducers and Activators of Transcription 5a/5b). These transcription factors play a crucial role in the initiation and maintenance of CML and mediate resistance to Bcr-Abl kinase inhibitors such as Imatinib Mesylate (IM). Inhibition of STAT5 would contribute to reduce the survival of CML cells and tackle their chemoresistance.

A first structure-activity relationship study, carried out by Ludovic Juen during his PhD work, allowed us to identify one compound, **17f**, as having the most potent antileukemic effect. Moreover, **17f** inhibited the growth of acute and chronic myeloid leukemia cell lines (AML and CML) as well as phosphorylation and transcriptional activity of STAT5. These results suggest that **17f** might be a new lead molecule targeting STAT5 signaling in myeloid leukemias.



**Figure 2. The lead 17f and its new analogs**

Thanks to these results, synthesis of **17f** new analogs with modulation around the tetrahydroquinoline ring have been undertaken and their biological evaluation by proliferation studies were carried out on CML cell lines KU812 and K562. These new results will be depicted. *In silico* molecular alignments between **17f** and all analogs were carried out and allowed us to obtain a 3D pharmacophore that can subsequently guide future synthesis.

**Mots-clés** : heterocyclic chemistry, pharmacomodulation, Stat5, leukemia

Actes du 31<sup>ème</sup> Colloque BIOTECHNOCENTRE, Seillac 11-12 Octobre 2018

## Comparative transcriptome analysis unveils the adaptation mechanisms of *Scedosporium apiospermum* to the microenvironment of cystic fibrosis lung

Patrick Vandeputte<sup>1,2</sup>, Thomas Dugé de Bernonville<sup>3</sup>, Yohann Le Govic<sup>1,2</sup>, Amandine Gastebois<sup>1</sup>, Solène Le Gal<sup>1,4</sup>, Sandrine Giraud<sup>1</sup>, Gilles Nevez<sup>1,4</sup>, Nicolas Papon<sup>1</sup>, Jean-Philippe Bouchara<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène (EA 3142), Université d'Angers, UBL, Angers, France ; <sup>2</sup>Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France ; <sup>3</sup>Biomolécules et Biotechnologies Végétales (EA 2106), Université de Tours, Tours, France ; <sup>4</sup>Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire de Brest, Brest, France.

Conidia of the filamentous fungus *Scedosporium apiospermum* are scarcely ever reported in aeromycological studies. Nevertheless, this species ranks the second among the filamentous fungi that are capable to colonize the lungs of patients with cystic fibrosis (CF). Beside a context of immunosuppression (lung transplantation), the colonization of the CF airways by *S. apiospermum* usually remains asymptomatic. Why the colonization of the lower airways by *S. apiospermum* is fairly tolerated by CF patients while the fungus is able to induce a marked inflammatory reaction in other clinical contexts (for example in subcutaneous mycetomas resulting from traumatic inoculation of some soil fungal elements), remains questionable. In this regards, we were here interested in exploring the transcriptional reprogramming that accompanies the adaptation of *S. apiospermum* to the particular microenvironment encountered in the airways of patients with CF (hypercapnia, hypoxia, acid pH, low osmolarity, and increased lactate concentration). Here, we demonstrated that cultivation of the fungus in conditions mimicking the microenvironment in the CF lungs induced marked transcriptional changes. This includes notably a global shift in the composition of the cell envelop, that reflects the ability of the fungus to evade the host immune response by lowering the biosynthesis of some major antigenic determinants or inhibiting their targeting to the cell surface through alterations of the membrane fluidity. In addition, this analysis revealed that some genes encoding enzymes involved in the biosynthesis of aflatoxin-like mycotoxins are down regulated indicating that, during the colonization process, *S. apiospermum* probably reduces the production of toxic secondary metabolites to prevent exacerbation of the immune system response, notably the macrophage-mediated oxidative burst. Finally, we observed a strong up-regulation of many genes encoding enzymes involved in the degradation of aromatic compounds. The capacity of *S. apiospermum* to degrade aromatic hydrocarbons is already well documented and it has been hypothesized that this metabolic trait would predispose the fungus to particular patterns of human pathogenicity. Thus we provide here the first experimental data supporting a role of these catabolic properties in the host-pathogen interactions.

This work was supported by a grant from Vaincre La Mucoviscidose and Association Grégory Lemarchal (RF20150501375)

**Thème** : Medical mycology

**Mots clés** : Cystic fibrosis, stress adaptation, transcriptomics, *Scedosporium*

## **PHARMALAB : Promouvoir la Recherche dans les études pharmaceutiques**

### **BUREAU DE L'ASSOCIATION**

- BURGAUD Adèle : President
- LEON Sacha : President
- BION Clement : Trésorier
- TIREAU Emilie : secrétaire
- LAMBERIOUX Morgan : VP orientation
- NTOBE Beni : VP communication
- AVRY Francois : VP événementiel
- MOUILLE Maxence : VP accompagnement

### **OBJECTIFS**

- 1/ Informer les étudiants sur le Parcours Recherche
- 2/ Accompagner les étudiants dans l'accès aux doubles-cursus Pharmacie-Sciences
- 3/ Découvrir la place du pharmacien dans les équipes de Recherche

### **PROJETS POUR L'ANNEE 2017/2018**

- 1/ Diffusion d'information scientifique
- 2/ Visite de laboratoires et de centres de Recherche
- 3/ Organisation de conférences
- 4/ Rédaction d'un "Guide pratique du Parcours Recherche"
- 5/ Présence aux forums de l'orientation à destination des futurs bacheliers et PACES
- 6/ Partenariats avec d'autres associations de la faculté de Pharmacie de Tours
- 7/ Tutorat "Ecole de l'Inserm" pour les étudiants candidats



## Frag2Drugs, un outil *in silico* novateur de conception d'inhibiteurs basé sur les fragments

Peyrat, G.<sup>(1)</sup>, Bournez, C.<sup>(1)</sup>, Gally, J-M.<sup>(1)</sup>, Krezel, P.<sup>(1)</sup>, Aci-sèche, S.<sup>(1)</sup>, Bonnet, P.<sup>(1)</sup>.

(1) Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA UMR7311) Université d'Orléans  
Pôle de chimie rue de Chartres - BP 6759 - 45067 Orléans Cedex 2 France

Au cours des vingt dernières années, l'approche de conception de médicaments basée sur les fragments (FBDD) a été largement développée et utilisée dans les laboratoires académiques et les entreprises pharmaceutiques. Aujourd'hui, plusieurs médicaments approuvés par la FDA (Food and Drug Administration) ou en phases avancées des essais cliniques ont été découverts à l'aide de cette méthode. Parmi ceux-ci le vemurafenib est un médicament ciblant la protéine kinase mutée B-Raf V600E, développé par Plexxikon et approuvé par la FDA en 2011 contre le mélanome.

Les fragments sont des petites molécules de faible poids moléculaire (typiquement inférieur à 300 Da) contenant plusieurs groupements fonctionnels. Ils se fixent avec une plus faible affinité que les ligands entiers, mais avec une plus grande efficacité grâce à un plus grand nombre d'atomes impliqués dans ces interactions. Les fragments peuvent alors être optimisés (par croissance) ou combinés (par liaison) dans le site actif de la protéine cible pour concevoir de potentiels inhibiteurs sélectifs et puissants.

Le travail présenté ici porte sur un outil *in silico* novateur de FBDD, Frag2Drugs. Les fragments y sont utilisés pour concevoir des inhibiteurs de kinase directement dans le site actif des cibles protéiques. Les positions des fragments dans la cavité sont extraites de ligands co-cristallisés ou obtenues par amarrage moléculaire. Après cette première étape, les relations entre ces milliers de fragments, divisées en deux catégories, exclusion et inclusion, sont calculées puis stockées dans une base de données orientée graphe. Cette base de données permet de retrouver toutes les connexions possibles entre les fragments liés à la cible étudiée. Le premier fragment positionné (appelé *seed*) peut être choisi par un chimiste médicinal comme échafaudage moléculaire d'intérêt. Pendant la croissance automatique de la *seed*, des filtres personnalisés sont appliqués pour guider Frag2Drugs vers la création d'un nouveau ligand avec les propriétés désirées. De plus, cette approche peut être utilisée pour effectuer des liaisons entre plusieurs fragments donnés. Finalement, Frag2Drugs a été validé en reconstruisant les inhibiteurs co-cristallisés dans les protéines kinase et appliqués avec succès sur 3 projets de recherche de conception de nouveaux inhibiteurs de protéines kinases.

**Mots-clés** : FBDD, Conception d'inhibiteur, Fragment, Ligand, Protéine cible, Protéine kinase

Les conférences sont classées par ordre de présentation au colloque et les posters sont classés par ordre alphabétique dans chaque filière de l'école doctorale ou hors école doctorale. Les numéros indiqués correspondent au numéro de page du résumé de la conférence ou du poster.

### **Conférences :**

Fehrentz JL	page 7		
Beltramo M	page 8		
Youbicier-Simo BJ	page 9	Creuzat F	page 51
Billet K	page 10	Cros J	page 63
Drouin A	page 11	Cruz P	page 40
Abdallah F	page 12	Cuello C	page 64
Decourtye A	page 13	Durand S	page 52
De Pascali F	page 14	El Khamlichi C	page 65
Ben Djeema S	page 15	Girardin C	page 66
Lefebvre M	page 16	Figiel S	page 41
Paterlini-Brechot P	page 17	Grandaye J	page 83, 84
Breton C	page 18	Habes C	page 42
Becker J	page 19	Halewa J	page 43
Bujoli B	page 20	Helou L	page 85
Fontaine D	page 21	Henriet E	page 67
Mambu J	page 22	Hervin V	page 68
Bournez C	page 23	Houchat JN	page 69
Musnier A	page 24	Jaffar-Bandjee M	page 86
Mathiron A	page 25	Khazaal S	page 53
Jaszczyk J	page 26	Kouba S	page 44
Rochet M	page 27	Kurowska P	page 87
Locatelli Y	page 28	Largillière J	page 70
Tillier B	page 29	Laurent M	page 71
Rogniaux H	page 30	Lié O	page 45
		Lieseke F	page 46
		Majdoub S	page 72
		Makki AA	page 91
		Mayor A	page 92
		Ostache NC	page 73
		Oyallon B	page 93
		Papon N	page 95
		Pastor F	page 54
		Pastuszka A	page 55
		Peyny M	page 88
		Peyrat G.	page 97
		Pharmalab	page 96
		Polomski M	page 94
		Renard A	page 56
		Seren S	page 47
		Siwiaszczyk M	page 89
		Soklou KE	page 75
		Souli N	page 76
		Van Meyel S	page 57
		Vergès V	page 48
		Wacquiez A	page 58
		Wang P	page 77

### **Posters**

Abboud S	page 59
Barbe A	page 78, 79
Bensalem A	page 90
Bergoug M	page 60
Bertevello P	page 80
Bessaad A	page 61
Bongrani A	page 81, 82
Bregeon M	page 37
Buttard F	page 62
Chami A	page 38
Chazeirat T	page.39
Chuard A	page 49
Cochard J	page 50

## **JEUDI 11 Octobre 2018**

<b>8h30</b>	<b>Accueil des participants</b>
<b>9h00 - 9h30</b>	<b>OUVERTURE DU COLLOQUE - Session académique</b> <b>Christian ANDRES</b> , <i>Président de Biotechnocentre</i> <b>Présidents ou Vice-présidents des Universités d'Orléans et de Tours</b> <b>Anne BESNIER</b> , <i>Vice-Présidente déléguée à l'enseignement supérieur et à la recherche du Conseil Régional Centre-Val de Loire</i>
<b>SESSION 1</b>	<b>Modérateurs : Agnès DELMAS et Marie-Claude VIAUD</b>
<b>9h30 - 10h10</b>	<b>Jean Alain FEHRENTZ</b> , <i>IBMM, CNRS, Université de Montpellier</i> <b>Les ligands du récepteur de la ghréline : de la paillasse au médicament</b>
<b>10h10 - 10h40</b>	<b>Massimiliano BELTRAMO</b> , <i>UMR PRC INRA CVDL</i> <b>Projet Région : Développement d'analogues de la kisspeptine pour la maîtrise de la reproduction en élevage</b>
<b>10h40 - 11h10</b>	<b>Benoit-Jules YOUBICIER-SIMO</b> , <i>Atlanpôle Biothérapies</i> <b>Offre de services du pôle de compétitivité Atlanpôle Biotherapies aux entreprises pour l'ingénierie de projets collaboratifs d'innovation : principaux outils de financement de la R&amp;D</b>
<b>11h10 - 11h30</b>	<b>PAUSE CAFE</b>
<b>SESSION 2</b>	<b>Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modérateurs : Sophie TESSERAU et Franck SUZENET</b>
<b>11h 30 - 11h45</b>	<b>Kevin BILLET (Filière A)</b> , <i>EA 2106 Université de Tours</i> <b>Field-metabolomics of Vitis vinifera L. stems provides new insights for genotype discrimination and polyphenol metabolism structuring</b>
<b>11h45 - 12h00</b>	<b>Aurélie DROUIN (Filière B)</b> , <i>Inserm U1259 Morphogénèse et antigénicité du VIH et des virus des Hépatites</i> <b>Etude de la capacité d'échappement de la glycoprotéine d'enveloppe du VIH-1 à la restriction médiée par les protéines IFITM</b>
<b>12h00 - 12h15</b>	<b>Florence ABDALLAH (Filière C)</b> , <i>CBM - CNRS Orléans</i> <b>Rôle du miR-21-3p dans l'hyperprolifération kératinocytaire induite par l'IL-22 dans le cadre du psoriasis</b>
<b>12h15 - 14h00</b>	<b>PHOTO DU GROUPE &amp; REPAS</b>
<b>SESSION 3</b>	<b>Modérateur : Henri SALMON</b>
<b>14h00 - 14h40</b>	<b>Axel DECOURTYE</b> , <i>ITSAP, institut de l'abeille</i> <b>Approche écotoxicologique pour résoudre l'énigme de la disparition des butineuses chez l'abeille domestique</b>
<b>SESSION 4</b>	<b>Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modérateurs : Sébastien ROGER et Isabelle VIRLOGEUX-PAYANT</b>
<b>14h40 - 14h55</b>	<b>Francesco DE PASCALI (Filière D)</b> , <i>UMR85-PRC/BIOS-ER5, INRA CVDL</i> <b>Modulation of FSH receptor- and GPR54 signalling with conjugated nanobodies</b>
<b>14h55 - 15h10</b>	<b>Sanaa BEN DJEEMA (Filière E)</b> , <i>EA6295 Nanomédicaments et Nanosondes</i> <b>Trafic et devenir intracellulaire de SiRNA nanovectorisés sur un modèle de cancer du sein triple négatif</b>
<b>15h10 - 15h25</b>	<b>Marlène LEFEBVRE (Filière C)</b> , <i>INRA UMR 0588 INRA-ONF BioForA/Equipe COR INRA CVDL</i> <b>Réponses adaptatives des semis de peuplier noir face au changement climatique</b>
<b>15h25 - 15h55</b>	<b>ASSEMBLEE GENERALE</b>
<b>15h55 - 16h15</b>	<b>PAUSE CAFE</b>
<b>SESSION 5</b>	<b>Modérateur : Bertrand CASTAING</b>
<b>16h15 - 16h55</b>	<b>Patrizia PATERLINI-BRECHOT</b> , <i>Université Paris Descartes</i> <b>ISSET : Nouvelle approche pour le suivi et le diagnostic précoce des cancers invasifs</b>
<b>17h00 - 17h30</b>	<b>Christian BRETON</b> , <i>UMR BioForA, INRA-ONF, INRA VDL Orléans</i> <b>Projet région : Valorisation cosmétique d'extraits de bois de Robinier</b>
<b>17h30 - 18h00</b>	<b>Jérôme BECKER</b> , <i>UMR PRC INRA CVDL</i> <b>Nouvelles approches pharmacologiques pour soulager les troubles autistiques dans des modèles précliniques de la pathologie</b>
<b>18h00 - 19h30</b>	<b>Session POSTER</b>
<b>19h30 - 20h00</b>	<b>Apéritif</b>
<b>20h00</b>	<b>Repas et Soirée Biotechnocent</b>

## **VENDREDI 12 Octobre 2018**

- SESSION 6**  
**9h00 - 09h40**      **Modérateur : *Nathalie GUIVARC'H***  
**Bruno BUJOLI**, *Chimie et Interdisciplinarité : Synthèse Analyse Modélisation UMR 6230 CNRS-Université de Nantes*  
**Nouveaux ciments à base de phosphates de calcium, pour la chirurgie de reconstruction osseuse**
- SESSION 7**  
**9h40 - 9h55**      **Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modérateurs : *Emilie ALLARD-VANNIER et Thierry MOREAU***  
**Delphine FONTAINE** (Filière A), *UMR INSERM 1069 « Nutrition, Croissance et Cancer »*  
**Régulation du canal SK3 par les éther-lipides endogènes dans des cellules de cancer du sein**
- 9h55 - 10h10**      **Julien MAMBU** (Filière B), *ISP, INRA, Université François Rabelais de Tours, UMR 1282*  
**L'invasine Rck de Salmonella Typhimurium module le cycle cellulaire de l'hôte pour faciliter l'infection**
- 10h10 - 10h25**      **Colin BOURNEZ** (Filière C), *ICOA UMR7311, équipe SB&C*  
**D'un réseau de fragments 3D à la conception de nouveaux inhibiteurs de kinases**
- 10h25-10h55**      **PAUSE CAFE**
- SESSION 8**  
**10h55 - 11h25**      **Modérateur : *Catherine TARAGNAT***  
**Astrid MUSNIER**, *MabSilico*  
**MABSilico: in silico methods for antibody development**
- SESSION 9**  
**11h25 - 11h40**      **Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modérateurs : *Florian GUILLOU et Christelle SUPPO***  
**Anthony MATHIRON** (Filière D), *IRBI/Equipe ESORE*  
**Je ne suis pas d'humeur ! Effet de l'hormone juvénile sur le statut reproducteur et l'agressivité chez les femelles d'une guêpe parasitoïde**
- 11h40 - 11h55**      **Justyna JASZCZYK** (Filière C), *ICOA*  
**Tunable approach to the synthesis of iminosugar-C-glycosides through the application of the Stille cross-coupling**
- 11h55- 12h10**      **Marion ROCHET** (Filière D), *U1253 iBrain, Equipe 1 Psychiatrie neurofonctionnelle*  
**Perception émotionnelle et sensorielle et symptômes dépressifs, quels liens ?**
- 12h10 - 14h00**      **REPAS**
- SESSION 10**  
**14h00 - 14h30**      **Modérateur : *Jean-Louis DACHEUX***  
**Yann LOCATELLI**, *MNHN, réserve de la Haute Touche*  
**Projet Région : Influences de l'hybridation entre le cerf sika et élaphe (C.n.nippon x C.e.scoticus) sur l'endocrinologie de la gestation et la mise en place de la relation mère-jeune**
- 15h00 - 15h30**      **Bruno TILLIER**, *Synhelis*  
**Systèmes d'expression « cell-free » : de nouvelles possibilités pour la production de protéines**
- 15h30 - 16h10**      **Hélène ROGNIAUX**, *INRA Nantes*  
**Imagerie par spectrométrie de masse en science des plantes et des aliments. Une perspective en 3D**
- 16h15**              **REMISE DES PRIX et CLOTURE**