

ACTES

du

32^{ème} Colloque

BIOTECHNOCENTRE

10-11 Octobre 2019
Seillac (Loir et Cher)

Avec le concours du Conseil Régional



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

Président: **Christian Andrés** andres@med.univ-tours.fr –

Secrétariat : **Nathalie Riche** biotechnocentre@sfr.fr

Chères collègues, chers collègues,

Notre association a bénéficié du soutien de la Région Centre-Val de Loire dans le cadre du deuxième appel d'offre « Réseaux thématiques de Recherche ». Ce soutien va nous permettre de poursuivre durant quatre années les activités qui sont maintenant classiques de Biotechnocentre : la journée thématique en juin et le colloque en octobre. Ces manifestations sont aussi les vôtres et nous vous encourageons à nous contacter pour nous suggérer des améliorations ou des évolutions. Dans cette nouvelle mouture de notre plan d'actions, nous proposons de soutenir des mobilités de courte durée (de l'ordre de trois semaines) de doctorants dans des équipes européennes, ceci afin de permettre de créer dès les années de thèse des relations avec des équipes européennes, et espérer ainsi nouer des liens propices à l'émergence de projets européens. Nous communiquerons prochainement pour préciser les modalités de cette action. « Le nerf de la guerre c'est l'argent » mais rien ne va sans l'implication des personnes, et je tiens à remercier l'ensemble des membres bénévoles du conseil d'administration de notre association ainsi que Nathalie Riche, notre secrétaire, qui s'impliquent tout au long de l'année pour le bon fonctionnement de nos événements. Le 32^{ème} colloque Biotechnocentre sera plus international que jamais avec des conférenciers venus des quatre coins du globe : USA, Japon, Cuba. Nous testerons aussi pour la première fois une formule des exposés « pitches » pour nos doctorants : 90 secondes d'exposé oral en salle pour introduire un poster, qui sera par ailleurs présenté sous forme classique d'affiche. Ce terme de pitch, issu du langage commercial et qui s'apparente donc à la harangue que doit faire le vendeur pour valoriser son produit, s'est maintenant répandu dans les congrès et sera sans doute un mode de communication scientifique habituel dans très peu de temps. Nous avons l'impression que la science évolue de plus en plus rapidement. Cela est sûrement vrai en partie (mais a déjà été souligné à d'autres époques...) et le phénomène est décuplé par le fantastique moyen de communication qu'est internet. Mais il ne faut pas perdre de vue le « noyau dur » de nos métiers : l'observation, l'expérience et le sens critique. Cela nous sera rappelé entre autres par la conférence de Konrad Hinsen. Sachons utiliser les nouveaux outils pour valoriser et diffuser le « dur » de notre métier, et tentons de ne pas nous perdre dans cette accélération apparente et continue qui peut donner le vertige !

Je vous souhaite un très bon colloque 2019 !

Christian Andres

Président Biotechnocentre

Conférences

1- Les effets de l'ozone sur notre épigénome

Marie-Abèle BIND

2- GAG storage disorder: the harmful impact of HS in cysteine cathepsin activity

Thibault CHAZEIRAT

3- Development of a physiologically relevant cell culture model based on hypoxia for the study of the HCV life cycle

Jade COCHARD

4- Développement de bras enzymo-labiles pour la synthèse totale de protéines par ligations chimiques sur support solide

Skander ABOUD

5- KT110, un candidat médicament contre les addictions : Du concept scientifique à la concrétisation industrielle.

Philippe BERNARD

6- Les mycotoxines, des contaminants alimentaires naturels

Philippe PINTON

7- Identification de la xanthommatine non cyclisée, un intermédiaire clé de la biosynthèse pigmentaire des ommochromes chez les invertébrés

FIGON Florent

8- Le TFPI-2, tissue factor pathway inhibitor-2, régule les fonctions de la kallicréine 5 dans les pathologies pulmonaires

LENGA Woodys

9- Régulation intracellulaire de deux récepteurs nicotiques neuronaux de blatte par la calmoduline

HOUCHAT Jean-Noël

10- Alcaloïdes anticancéreux : les ultimes secrets de la pervenche de Madagascar

Vincent COURDAVAULT

11- Cuban experience in vaccines development

Dagmar GARCIA RIVERA

12- Expérience, statistique, calcul : la trinité de la reproductibilité scientifique

Konrad HINSEN

13- Signalisation de la vitamine D et maladies rares

Gilles LAVERNY

14- Effets des lactones macrocycliques sur les canaux chlorure glutamate-dépendant du nématode parasite du cheval *Parascaris sp*

LAMASSIAUDE Nicolas

15- Design, synthesis and biological evaluation of quinoxaline-2-carboxylic acid analogues as potent PIM-1 kinase inhibitors

OYALLON Bruno

16- Méthodologie de synthèse d'hétérospirosycles pour la diversité moléculaire et la chimie médicinale

SOKLOU Kossi

17- Présentations des plateformes de spectrométrie de masse de la Région CVDL

Martine Cadène et Valérie Labas

18- Projet région MariLine : Valorisation de la biodiversité structurale issue de populations sauvages et cultivées de Chardon Marie pour des applications Cosmétiques

Christophe HANO

19- Combined cell-surface display technology and metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for xylitol production and nanofibrillation of lignocellulosic biomass

Grégory GUIRIMAND

20- Interactions moléculaires avec la paroi cellulaire bactérienne

Jean-Pierre SIMORRE

CONFERENCES

The effects of ozone on the epigenome

Marie-Abèle Bind

Harvard University, USA

Recent epidemiological studies have reported associations between short-term exposure to ozone and mortality. Such studies have previously reported associations between PM2.5 and mortality, whereas support for an actual causal relationship must come from controlled-exposure studies that describe molecular mechanisms by which PM2.5 could induce mortality. The pathophysiological pathways underlying adverse clinical events after ozone exposure are still unknown. This study aims to examine the effect of ozone on the DNA methylome and involves seventeen people in a crossover randomized experiment measuring the results of exposure to two exposures conditions, clean air and ozone, with DNA methylation measurements at 484,531 genomic locations. A common issue that arises with current analyses of epigenomic data is the repeated use of hypothesis tests. A second issue that arises in small samples is the use of asymptotic p-values. Here, we describe the use of randomization-based tests to obtain a single Fisher exact p-value that is valid whatever the correlational structure of the data, unlike Bonferroni adjustments. The power of the resultant test to detect real differences, however, requires the careful a priori selection of the single test statistic that reflects our a priori understanding of the underlying science.

GAG storage disorder: the harmful impact of HS in cysteine cathepsin activity

Thibault Chazeirat^a, Sophie Denamur^a, Damien Sizaret^b, Marine Tardieu^c, Ahlame Saïdi^a, Dieter Brömme^d, François Labarthe^{c,e}, Gilles Lalmanach^a, Fabien Lecaille^a

a: INSERM, UMR 1100, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Equipe "Mécanismes protéolytiques dans l'inflammation", Université de Tours, Tours, France. b : Département d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Bretonneau, CHRU Tours. c : Médecine Pédiatrique, Hôpital Clocheville, CHRU Tours, France. d : Department of Oral Biological and Medical Sciences, University of British Columbia, Vancouver, British Columbia, Canada. e : INSERM UMR 1069, Nutrition Croissance et Cancer, Université de Tours, Tours, France.

Mucopolysaccharidoses (MPS type I-VII) are a rare group of lysosomal storage diseases characterized by the build-up of glycosaminoglycans (GAGs), in particular heparan sulfate (HS), and dermatan sulfate (DS), and multi-visceral involvement like skeletal abnormalities and respiratory disorders leading in part to early mortality. It is well established that the lysosomal system has numerous functions in normal and pathological processes, including the survival function of lung. Abnormal collagens and elastin deposits in MPS lung parenchyma may related to lung malfunction. Lysosomal cysteine cathepsins (Cat) are proteases (11 in human) involved in protein degradation and turnover, which a majority are ubiquitously expressed in human tissues. Their activity is tightly controlled by endogenous inhibitors named cystatins. Nevertheless, an imbalance between cathepsin/inhibitor is associated to inflammatory processes in various pulmonary pathologies (cystic fibrosis, fibrosis, asthma) and bone diseases (osteoporosis, rheumatoid arthritis). Our hypothesis is that overexpression of GAG in particular HS prevent the physiological activity of cathepsins in lungs of MPS patients. Herein, we reported that sulfated GAG levels, including HS are significantly higher in cell-free lysates from expectorations of MPS type I, II and III patients (N=12) in comparison to non-MPS patients (N=7). Interestingly, both sulfated GAGs and HS levels are negatively correlated with endopeptidase cysteine cathepsin activity in situ (Spearman correlation: $r=-0,7325$, $p=0.0005$; $r=-0,5370$, $p=0.0262$, respectively). We then focused on CatV, which possesses the most potent elastase activity yet described among human proteases. IHC studies on lung biopsy obtained from a post-mortem 2-year-old female with MPS I revealed that CatV is mainly expressed in alveolar macrophages and epithelial cells in the vicinity of GAGs. Moreover, purified CatV activity is inhibited in vitro with cell-free lysates of MPS patients in a dose dependent manner, while its activity is not impaired in non-MPS. In contrast, treatment of biological samples with glycosidases fully restores CatV activity, supporting that abnormal accumulation of GAGs impairs endopeptidase activity of cathepsins. Among GAGs, we identify by a serie of different in vitro and ex-cellulo experiments that HS in a variety of forms (linear chain, proteoglycan, fragments) is a potent inhibitor of CatV. Surfen, a small antagonist of HS, prevents CatV inhibition in vitro and raise the possibility of developing pharmacological drugs to block GAG-cathepsin interactions, which may be benefic in diseases with GAG storage disorders.

Mots-clés : Mucopolysaccharidosis, Cysteine cathepsin, Glycosaminoglycan, Heparan sulfate

Development of a physiologically relevant cell culture model based on hypoxia for the study of the HCV life cycle

Jade Cochard¹, Anne Bull-Maurer¹, Clovis Tauber², Jean-Christophe Meunier¹, Philippe Roingeard^{1,3} and Philippe Chouteau¹

¹: INSERM U1259, Université de Tours et CHRU de Tours, France.

²: UMRS INSERM U1253 Imagerie et cerveau, Université de Tours, France.

³: Plate-Forme IBiSA des Microscopies, PPF ASB, CHRU de Tours, France.

Standard HCV cell culture models produce skinny lipo-viro particles (LVPs), biochemically and morphologically far from the large, triglycerides- and ApoE-rich LVPs circulating in infected patients. These lipid-deficient models are thus weakly adapted to explore the natural viral life cycle. Here, we describe an original cell culture model based on both cellular differentiation and sustained hypoxia. Long-term exposed Huh7.5 cells to DMSO and hypoxia (1% O₂) (Huh7.5^{hypo-diff}) displayed both a significant increase in the expression of major differentiation markers and a stabilization of the Hypoxia Inducible Factors (HIF)-1 α and 2 α within the nucleus, leading to the transcriptional activation of HIFs targets by contrast with undifferentiated and normoxic (21% O₂) standard conditions (Huh7.5^{stand}). Hepatocyte-like differentiation and hypoxia are key regulators of intracellular lipid metabolism, essential for HCV life cycle. We characterized the distribution of lipid droplets (LDs) and clearly demonstrate that Huh7.5^{hypo-diff} significantly accumulate larger and more numerous LDs than Huh7.5^{stand}. Moreover, intracellular ApoE was identified at the surface of LDs in Huh7.5^{hypo-diff}. An immune-capture (IC) and transmission electron microscopy (TEM) approach (IC-TEM) showed that Huh7.5^{hypo-diff} produced lipoproteins significantly larger than those produced by Huh7.5^{stand}. Huh7.5^{hypo-diff} are permissive to JFH1 infection and IC-TEM revealed that produced LVPs display a size and an ultrastructure similar to those present in naturally infected sera. Finally, these LVPs presented a significantly higher specific infectivity than those produced in standard conditions.

Overall, these results demonstrate that we established an original and physiologically relevant lipid-rich cell culture model that mimic the natural HCV life cycle.

Mots clefs : HCV – Hypoxia – Differentiation – Lipid metabolism

Développement de bras enzymo-labiles pour la synthèse totale de protéines par ligations chimiques sur support solide

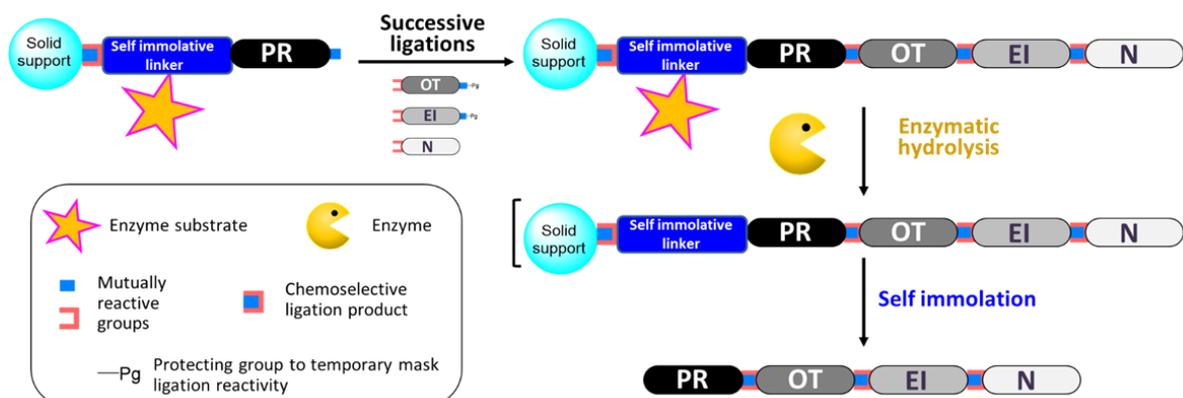
Skander Abboud¹, Sébastien Papot², Véronique Piller¹, Vincent Aucagne¹.

¹Centre de Biophysique Moléculaire – CNRS, Orléans

²Institut de Chimie des Milieux et des Matériaux de Poitiers – Université de Poitiers, Poitiers

La production de protéines par synthèse « totale » est un champ de recherche en plein essor. Les technologies actuelles se focalisent sur des approches d'assemblage modulaire de fragments peptidiques de quelques dizaines d'acide aminés, par le biais de réactions très sélectives de « ligation chimique ». Au sein de notre équipe, un accent particulier a été mis sur le développement de techniques permettant un assemblage sur support solide afin de s'affranchir des étapes de purifications intermédiaires¹. Dans ce but, nous avons introduit une gamme de nouveaux bras (*linkers*) permettant l'immobilisation spécifique d'un premier fragment peptidique pur et non-protégé sur un support solide adapté. Le principal enjeu est de maîtriser les conditions de coupure de ces bras. Les bras que nous avons développés jusqu'ici font appel à des conditions basiques ou nucléophiles qui limitent leur champ d'application. L'objectif principal de ma thèse est de développer une nouvelle génération de bras en explorant une approche enzymatique² dans le but d'induire une coupure rapide et efficace dans des conditions extrêmement douces et sélectives.

Dans un premier temps, nous avons utilisé dans ce but un bras développé dans le cadre d'applications en ciblage thérapeutique.² La coupure enzymatique par la β -galactosidase a été optimisée successivement en solution, puis sur un peptide greffé sur un support solide. Il s'est avéré que les cinétiques de coupures sont beaucoup plus lentes sur support et que la nature de ce dernier joue un rôle prépondérant sur le rendement de la réaction. Dans un second temps, un bras de deuxième génération a été conçu pour pallier aux limitations du premier notamment : (1) la complexité de sa synthèse et (2) le haut poids moléculaire de la β -galactosidase qui nuit à sa diffusion rapide au sein du support et ralentit ainsi la coupure enzymatique. Les cinétiques de coupure sur support solide de ce deuxième bras se sont révélées beaucoup plus rapides, validant ainsi l'approche. L'application à la synthèse de plusieurs protéines modèles est en cours et sera également présentée.



1. a) V. Aucagne *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51, 11320–11324; b) L. Raibaut *et al.*, *Chem. Sci.*, **2013**, 4, 4061–4066; c) I. Decostaire *et al.*, *Org. Biomol. Chem.*, **2014**, 12, 5536; d) M. Galibert *et al.*, *Chem. Sci.*, **2015**, 6, 3617.
2. S. Papot *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51, 11606–11610.

KT110, un candidat médicament contre les addictions : Du concept scientifique à la concrétisation industrielle.

Philippe Bernard

Kinnov Therapeutics, Orléans

Les addictions ont été reconnues officiellement comme pathologies chroniques du système nerveux central que récemment en 2011. Dès lors, les laboratoires pharmaceutiques ont renforcé leur intérêt dans l'identification de nouvelles thérapies efficaces contre cette pathologie.

Les addictions résultent d'un mécanisme complexe par encore complètement compris, d'origine endogène (génétique, neurologique) et exogène (environnemental, sociétal, psychologique). Les thérapies actuelles s'avèrent du coup peu efficaces quelles que soient les addictions (tabac, alcool, drogues...) avec bien souvent des rechutes.

Plusieurs stratégies thérapeutiques sont actuellement explorées. Kinnov-Therapeutics en propose une qui s'appuie sur les travaux scientifiques du Prof. Jean-Pol TASSIN. Cette approche consiste à dire que la dépendance aux substances addictives est liée au dysfonctionnement ou « découplage » des systèmes noradrénergiques et sérotoninergiques entraînant une envie irrésistible de reprendre la drogue.

Kinnov-Therapeutics a approfondi les recherches puis transposé le concept scientifique en un projet industriel, actuellement en cours de développement.

Les mycotoxines, des contaminants alimentaires naturels

Philippe PINTON

INRA-TOXALIM UMR 1331 180 chemin de Tournefeuille, BP 93173,
31027 Toulouse Cedex 3, France

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires de moisissures qui contaminent naturellement de nombreuses denrées (céréales, fruits, fruits secs, fourrages ...) au champ ou au cours de stockage. Elles sont toxiques pour l'homme et des animaux. Plus de 300 ont été identifiées dont une trentaine ont des propriétés toxiques préoccupantes. Du point de vue agro-alimentaire et sanitaire, les toxines dites "majeures" sont les aflatoxines, les ochratoxines et la patuline, produites par des moisissures des genres *Aspergillus* et *Penicillium* et les fumonisines, la zéaralénone, le déoxynivalénol et la toxine T-2, élaborés par les *Fusarium*.

Certaines mycotoxines ont une toxicité aiguë très marquée mais il est exceptionnel en Europe d'être exposé à des doses toxiques lors d'une seule ingestion d'aliments contaminés. Les effets chroniques (exposition répétée à de faibles doses) sont les plus redoutés. La toxicité des mycotoxines s'exprime sur des cibles très différentes comme le foie, l'intestin, les systèmes immunitaires et nerveux ou la fonction de reproduction. Les aflatoxines notamment l'aflatoxine B1, sont hépatotoxiques et entraînent des cancers primitifs du foie chez l'Homme dans de nombreuses zones tropicales et subtropicales. Le déoxynivalénol est immunotoxique, il provoque une réduction de la prise alimentaire qui réduit les performances zootechniques en élevage et il altère la structure et la fonction de barrière de l'intestin qui peut contribuer aux maladies inflammatoires intestinales chez l'Homme. La zéaralénone possède une forte affinité pour les récepteurs aux œstrogènes et perturbe la fonction de reproduction.

En conclusion, les mycotoxines constituent un problème très actuel de qualité et de sécurité en alimentation. L'évaluation du risque mycotoxique est délicate car la contamination fongique est difficilement contrôlable, de nouvelles toxines restent encore à découvrir et il faut prendre en compte le fait que les denrées sont contaminées par des mélanges de contaminants.

Identification de la xanthommatine non cyclisée, un intermédiaire clé de la biosynthèse pigmentaire des ommochromes chez les invertébrés

Florent Figon¹, Thibaut Munsch², Cécile Croix³, Marie-Claude Viaud-Massuard³,
Arnaud Lanoue² et Jérôme Casas¹

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

²Biomolécules et Biotechnologies Végétales, EA 2106, Université de Tours, 37200 Tours, France,

³Génétique, Immunothérapie, Chimie et Cancer, UMR CNRS 7292, Université de Tours, 37200 Tours, France

Les ommochromes sont des pigments très répandus chez les invertébrés et leurs rôles biologiques sont divers et variés. Ils sont notamment à la base du patron de coloration des céphalopodes et ils participent au filtrage de la lumière dans les yeux composés des insectes. Si les premières étapes de la biosynthèse des ommochromes à partir du tryptophane sont bien connues, les étapes suivantes qui mènent à la formation de leur chromophore restent non élucidées *in vivo*. Il a été avancé dans les années 50 que ce chromophore proviendrait de la cyclisation d'un intermédiaire de biosynthèse, la xanthommatine non cyclisée, issu de la condensation de deux molécules de 3-hydroxykynurénine. Cette hypothèse n'a jamais pu être testée en raison de l'absence de caractérisation analytique d'ommochromes biologiques et de la labilité de la xanthommatine non cyclisée. Dans cette étude, nous avons synthétisé la xanthommatine, l'ommochrome le mieux décrit, en oxydant la 3-hydroxykynurénine *in vitro*. Par une approche de chimie analytique, nous avons obtenu des indices forts sur la structure de nouveaux ommochromes, en particulier de formes méthoxylées issues de la réaction entre la xanthommatine et le méthanol acide, son principal solvant d'extraction. Ces données analytiques nous ont permis de proposer que l'une des molécules instables produites pendant la synthèse était la xanthommatine non cyclisée. Enfin, nous avons identifié la 3-hydroxykynurénine, la xanthommatine non cyclisée et ses deux produits de cyclisation dans les organites subcellulaires des yeux de la mouche domestique (*Musca domestica*) appelés ommochromosomes. Nos résultats confirment donc que la biosynthèse des ommochromes nécessite la formation de la xanthommatine non cyclisée par la condensation oxydative de deux molécules de 3-hydroxykynurénine dans les ommochromosomes. L'identification de la xanthommatine non cyclisée est une étape importante dans la compréhension des processus de formation et d'altération des ommochromes, en particulier de leurs bases enzymatiques. Nous discuterons enfin de la potentielle importance de cet intermédiaire dans la biosynthèse des ommines intervenant dans le changement de couleur des céphalopodes.

Mots-clés : chimie analytique, chromatographie liquide, intermédiaire de biosynthèse, ommochrome, organite subcellulaire, pigment, spectrométrie de masse en tandem, synthèse organique, xanthommatine.

Le TFPI-2, *tissue factor pathway inhibitor-2*, regule les fonctions de la kallibréine 5 dans les pathologies pulmonaires

Woodys Lenga Ma Bonda¹, Lucie Brisson², Laura Regnier¹, Sebastien Roger³, Yves Courty¹, Sophie lochmann^{1,4} and Pascale Reverdiau^{1,4}

¹Université de Tours, Inserm, UMR U1100, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Tours, France

²Université de Tours, Inserm, UMR U1069, N2C, Tours, France

³Université de Tours, EA 4245 Transplantation, Immunologie, Inflammation, Tours, France

⁴Université de Tours, IUT Département Génie Biologique, Tours, France

Selon l'OMS, la BronchoPneumopathie Chronique Obstructive (BPCO) sera la 3^e cause de mortalité dans le monde en 2030. Cette pathologie inflammatoire est associée à un cancer pulmonaire dans 1/3 des cas. La BPCO est caractérisée par un épaississement des parois des voies aériennes, une diminution progressive du calibre des bronches et une production importante de mucus. Ceci peut évoluer vers une destruction progressive du tissu pulmonaire et des alvéoles lors des phases d'exacerbation et de l'emphysème. Le tabagisme chronique, la principale cause de cette maladie, est responsable de l'agression de l'épithélium bronchique et induit la production de médiateurs de l'inflammation et de protéases. Nous avons focalisé notre étude sur la Kallibréine 5 (KLK5), une protéase à sérine qui pourrait, comme la plasmine et les métalloprotéases, être impliquée dans la dégradation de la matrice extracellulaire et le remodelage tissulaire. Nous avons démontré que la KLK5 induit un détachement des cellules épithéliales bronchiques Beas-2B, processus associé à une perte d'adhérence à la fibronectine matricielle et plus faiblement à la vitronectine et au collagène de type IV. Cette perte d'adhérence est expliquée par la capacité de la KLK5 à rapidement cliver la fibronectine et certaines intégrines, principalement les intégrines $\alpha 5\beta 1$ et $\alpha 6\beta 4$. De plus, les cellules acquièrent un phénotype mésenchymateux avec une augmentation de la migration cellulaire observée en vidéomicroscopie en temps réel et par l'étude de cette fonction en chambre de Boyden modifiée. En revanche, KLK5 n'a pas d'effet sur l'adhérence, la migration et l'invasion des cellules tumorales A549. Enfin, nous avons montré que le TFPI-2 (*Tissue Factor Pathway Inhibitor 2*), un inhibiteur de protéases à sérine de type kunitz, pouvait réguler l'activité de KLK5 et ainsi inhiber les fonctions de cette dernière. L'ensemble de ces résultats suggère que la modulation de KLK5 par le TFPI-2 régulerait la Transition Epithélio-Mésenchymateuse et impacterait le remodelage tissulaire nécessaire à la réparation de l'épithélium pulmonaire agressé par les composants de la fumée de cigarette dans un contexte inflammatoire et/ou cancéreux.

Mots clés : Kallibréine 5, TFPI-2, Protéases, inhibiteurs de protéases, remodelage tissulaire, pathologies pulmonaires

Régulation intracellulaire de deux récepteurs nicotiques neuronaux de blatte par la calmoduline

Jean-Noël Houchat, Emiliane Taillebois & Steeve H. Thany

Chez l'insecte, les récepteurs à l'acétylcholine de type nicotinique (nAChR) jouent un rôle essentiel dans la neurotransmission, mais sont également la cible des insecticides néonicotinoïdes. Si le mode d'action des néonicotinoïdes sur les nAChR est bien décrit, peu d'études s'intéressent aux mécanismes intracellulaires régulant la fonction des nAChR.

Récemment, cinq isoformes de la protéine kinase 2 calcium/calmoduline-dépendante ont été identifiées chez la blatte *Periplaneta americana*. Seule la PaCaMKII-E est exprimée dans les neurones DUM (Dorsal Unpaired Median). L'application de nicotine ou de clothianidine, un néonicotinoïde de seconde génération, sur les neurones DUM, entraîne un courant entrant suivi d'une augmentation de la concentration en calcium intracellulaire. L'inhibition de la PaCaMKII-E conduit à la réduction de ce courant. Cette réduction est accompagnée d'une diminution de la concentration en calcium intracellulaire. Ce résultat suggère un rôle important de la PaCaMKII-E dans la modulation des nAChR et de l'effet des agonistes.

Dans la continuité de ces travaux, nous nous sommes intéressés au rôle de la calmoduline dans la régulation des nAChR, particulièrement vis-à-vis de deux sous-types de récepteurs insensibles à l'alpha-bungarotoxine (α -BGT), nAChR1 et nAChR2. Nous avons testé les effets d'un inhibiteur de phosphodiesterase calmoduline-dépendante, le calmidazolium, sur les courants induits par la nicotine à travers nAChR1 et nAChR2. Nos résultats montrent que l'application de 15 μ M de calmidazolium réduit les courants induits par la nicotine. La co-application d' α -BGT n'a pas d'effet significatif sur cette réduction, ce qui indique que les effets du calmidazolium opèrent principalement sur les récepteurs insensibles à l' α -BGT. De plus, l'application des antagonistes spécifiques de nAChR1 et nAChR2 (d-tubocurarine et mécamylamine, respectivement), en présence de calmidazolium, conduit à une inhibition totale des courants nicotiques.

En conclusion, notre étude confirme le rôle de la PaCaMKII-E dans la régulation des effets de la nicotine sur les deux sous-types de nAChR insensibles à l' α -BGT, nAChR1 et nAChR2.

Mots-clés : Blatte, neurones DUM, récepteurs nicotiques, calmoduline, CaMKII

Vinca alcaloïdes anticancéreux: la pervenche de Madagascar livre ses ultimes secrets

Vincent Courdavault

Université de Tours - EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales – Faculté des Sciences et Techniques
Parc de Grandmont - F37200 TOURS. vincent.courdavault@univ-tours.fr

Depuis la découverte de ses propriétés antileucémiques dans les années 1950 et les travaux de Pierre Potier relatifs à la synthèse de Navelbine en 1984, la pervenche de Madagascar a suscité la curiosité de plusieurs générations de chercheurs. Les Vinca alcaloïdes cytotoxiques qu'elle accumule sont en effet issus d'une voie de biosynthèse des plus complexes au sein du règne végétal, voie dont la complète caractérisation semblait inatteignable jusque peu. Toutefois, des analyses transcriptomiques massives couplées à des approches d'inactivation transitoires de gènes ont récemment eu raison de cette complexité et les ultimes étapes assurant la synthèse des alcaloïdes majeurs de la plante ont été identifiées. Si l'existence d'isoformes de nombreuses enzymes couplée à une compartimentation élevée de leur distribution spatiale assurent toujours une haute intrication du métabolisme des alcaloïdes in planta, l'élucidation totale des voies de synthèse permet désormais leur reconstitution dans des systèmes hétérologues simplifiés. Ainsi, des cellules usines microbiennes ont tout dernièrement été développées pour assurer la production des anticancéreux par ingénierie métabolique. C'est ce type d'approche qui devrait permettre à terme de produire les Vinca alcaloïdes sans avoir recours à la pervenche.

Finlay Vaccine Institute: Cuban experience in vaccines development

Dagmar García Rivera

Research Director at Finlay Vaccine Institute

Finlay Vaccine Institute is a scientific organization created in honor of Dr. Carlos Juan Finlay, a renowned Cuban epidemiologist. It has success developing important vaccines for infection diseases: the first vaccine against serogroup B of meningococcal disease based on Outer Membrane Vesicles called VA-MENGOC BC® and the unique license vaccine using synthetic antigen vs Haemophilus influenzae type B Quimi-Hib®, among others.

Our research and development profile is based on our major capacities: conjugate vaccines against different pathogens, synthesis of oligosaccharides, purification of OMV and capsular polysaccharide from bacterial. The leader project is motivated on the development of a combination of products related with the pneumococcal conjugate vaccines, in order to induce protection against 20 serotypes. It is an innovative approach for introducing PCV vaccines with high ratio cost/benefit, addressing preschool children as the first-line target group to generate herd immunity in infants and to have an impact on transmission at the community level. The first PCV vaccine of this sequence is ready to license in 2020, after finishing Phase II/III protecting against the most important seven serotypes in children. Other 2 products are under development stage for complete 20 serotypes and combine with other immunogens. The scientific contribution of the Cuban strategy could support a paradigm shift from individual protection to a population effect based on a rigorous body of scientific evidence.

Our current and future collaborations are focused on corporative partnership for joint development in innovative projects, corporative partnership for accelerating the progress of projects towards commercialization, and out-licensing in selected territories with partners for the distribution of our established products.

Expérience, statistique, calcul : la trinité de la reproductibilité scientifique

Konrad Hinsén

Centre de Biophysique Moléculaire (UPR4301 CNRS), Orléans, France

Au cours des dernières années, la crise de la reproductibilité est devenue un sujet récurrent dans presque tous les domaines de la recherche scientifique. En effet, un grand nombre d'études scientifiques publiées se sont avérées non reproductibles : d'autres chercheurs ont répété les travaux décrits, mais n'ont réussi, ou ont obtenu des résultats différents. Ceci crée un doute sur la fiabilité des résultats de la recherche, et laisse soupçonner une négligence généralisée ou même des tentatives de fraude. Mais la réalité est plus compliquée : le même terme "reproductibilité" désigne des caractéristiques très différentes quand il est appliqué aux expériences, aux inférences statistiques, et aux calculs. Bien que la reproductibilité soit toujours désirable en principe, sa défaillance indique des problèmes de fond très différents, et pas toujours attribuables à des fautes professionnelles. Je vais essayer de démêler les différents types de reproductibilité afin d'aider à l'appréciation de la problématique, qui est un premier pas nécessaire à une amélioration de la qualité de nos recherches.

Vitamin D signalling and rare diseases

Gilles LAVERNY

Department of Functional Genomic and Cancer, Institut de Génétique et de Biologie
Moléculaire et Cellulaire, INSERM U1258, CNRS UMR7104, University of Strasbourg,
67400 Illkirch, France

The bioactive form of Vitamin D [1,25(OH)₂D₃, calcitriol] plays a major role in calcium homeostasis. It also has potent anti-inflammatory and anti-proliferative properties, and is thus a potential pharmacological agent to treat various refractory diseases. Nevertheless, the 1,25(OH)₂D₃ doses required to elicit such effects induce hypercalcemia.

The activity of calcitriol is mediated by the vitamin D receptor (VDR), a member of the nuclear receptor superfamily. In patients with rickets, multiple genetic abnormalities have been found in the VDR gene, affecting either DNA binding or ligand binding. While both types of mutations lead to skeletal abnormalities in human and mice, mutations impairing VDR DNA binding also induce alopecia.

In order to dissociate the calcemic activities of 1,25(OH)₂D₃ from its anti-inflammatory and anti-proliferative properties, more than 3000 analogues were synthesized using medicinal chemistry approaches. However, no potent agonists devoid of hypercalcemic activities have been obtained.

Based on the 3D structures of the VDR bound by 1,25(OH)₂D₃ or gemini analogues, we generated a point-mutated VDR (VDRgem) that is unresponsive to calcitriol, but the activity of which is efficiently induced by gemini ligands. VDRgem mice exhibit all clinical signs of rickets, but mineral ion and bone homeostasis is more impaired in VDRgem mice than in VDRnull mice.

Interestingly, we showed that many VDR target genes are repressed by unliganded VDRgem. As VDRgem mice have normal hair cycle in contrast to VDR-null mice, these results indicate that patients carrying VDR mutations affecting ligand recognition might have more severe skeletal defects than full receptor deficiency, even though they have no hair defects. Moreover, we identified a family of calcitriol analogue that induce VDRgem transcriptional activity and normalize serum calcium levels of VDRgem mice. Thus, our study opens new avenues for the diagnosis and treatment of Vitamin-D dependent rickets.

Effets des lactones macrocycliques sur les canaux chlorure glutamate-dépendant du nématode parasite du cheval *Parascaris sp*

Nicolas Lamassiaude¹, Elise Courtot¹, Cédric Neveu¹ and Claude L. Charvet¹

¹ ISP, INRA, Université Tours, UMR1282, 37380, Nouzilly, France

Parascaris sp. est le plus grand nématode parasite des équins (chevaux, ânes, poneys...) et est responsable de l'ascaridiose équine. Cette maladie se traduit par des troubles digestifs et respiratoires chez l'animal pouvant conduire à sa mort. Le contrôle de ce parasite repose essentiellement sur l'utilisation d'anthelminthiques tels que les lactones macrocycliques (MLs). Cependant, le contrôle de l'infestation est de plus en plus difficile en raison de l'émergence de parasites résistants à travers le monde. Chez le nématode modèle *Caenorhabditis elegans*, les récepteurs canaux chlorure glutamate-dépendants (GluCl) ont été identifiés comme étant les cibles principales des MLs. Toutefois, chez *Parascaris sp.*, le mode d'action des MLs reste largement méconnu. Dans cette étude, nous avons identifié les GluCl de *Parascaris sp.* et caractérisé l'effet d'une large gamme de MLs.

En utilisant une approche de type gène-candidat, nous avons identifié les orthologues de 6 gènes codant pour des sous-unités de GluCl chez *Parascaris sp.* Les ADNc codant pour ces sous-unités ont été amplifiés par PCR et clonés dans un vecteur de transcription. Les ARNc correspondants ont été synthétisés *in vitro* puis microinjectés dans des ovocytes de *Xenopus laevis*. Des expériences de « two-electrode voltage-clamp » ont été effectuées sur des GluCl recombinants afin d'étudier leurs propriétés pharmacologiques. Ainsi, l'expression d'une seule sous-unité et la combinaison de différentes sous-unités dans les ovocytes de xénope nous ont permis d'obtenir les GluCl homériques et hétéromériques fonctionnels de *Parascaris sp.* Les récepteurs étaient sensibles au glutamate et à l'ivermectine, mais présentaient des sensibilités très différentes face aux autres MLs appliquées. L'étude des fonctions physiologiques et l'impact des MLs sur ces récepteurs *in vivo* est en cours.

Cette étude fournit une meilleure compréhension de la pharmacologie des GluCl ainsi que du mode d'action des lactones macrocycliques chez les nématodes parasites.

Mots-clés : *Parascaris sp.*, récepteurs canaux chlorure glutamate-dépendant, lactones macrocycliques, ivermectine, ovocytes de *Xenopus laevis*

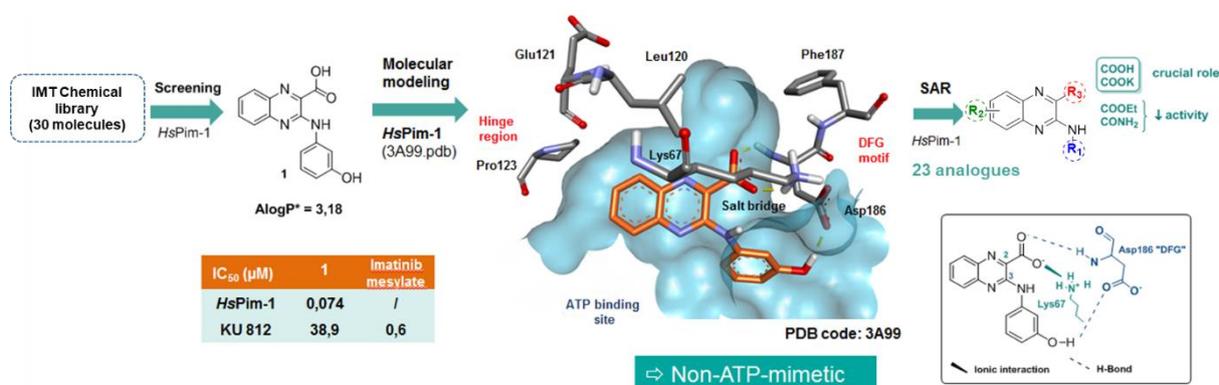
Design, synthesis and biological evaluation of quinoxaline-2-carboxylic acid analogues as potent PIM-1 kinase inhibitors

Bruno Oyallon^{1*}, Marie Brachet-Botineau^{2,3}, Cédric Logé⁴, Pascal Bonnet⁵, Mohamed Souab⁶, Thomas Robert⁶, Sandrine Ruchaud⁶, Stéphane Bach⁶, Pascal Berthelot⁷, Fabrice Gouilleux², Marie-Claude Viaud-Massuard¹, Caroline Denevault-Sabourin^{1*}.

¹EA 7501 GICC - IMT, Université de Tours, F-37200 Tours, France; ²CNRS ERL 7001 LNOx - EA 7501 GICC, Université de Tours, F-37000 Tours, France; ³CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, F-37044 Tours, France; ⁴Université 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; ⁵UMR CNRS-Université d'Orléans 7311, ICOA, Université d'Orléans, F-45067 Orléans, France; ⁶Sorbonne Universités, USR 3751 CNRS/UPMC, Plateforme de criblage KISSf, Station Biologique, Place Georges Teissier, F-29688 Roscoff, France; ⁷UMR-S 1172 - JParc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, Université de Lille, Inserm, CHU Lille, F-59000 Lille, France. *

Correspondance: caroline.denevault@univ-tours.fr, bruno.oyallon@etu.univ-tours.fr

The oncoprotein Pim-1 is a serine/threonine protein kinase involved in cell cycle regulation, cell survival, proliferation, and differentiation. This kinase is overexpressed in a large range of human tumors, plays a crucial role in resistance to chemotherapy drugs, and is thus considered as a relevant target for cancer therapy. In a previous work, we performed an *in vitro* screening of 30 compounds from our chemical library on a small panel of mammalian kinases comprising *HsPim-1*, and identified the quinoxaline-2-carboxylic acid **1** as a new lead compound. This molecule was able to inhibit the *in vitro* enzymatic activity of *HsPim-1* with an IC₅₀ of 74 nM, Docking studies realized in the ATP pocket of *HsPim-1* are consistent with an unclassical binding mode of this inhibitor. Thus, 21 new derivatives were synthesized, and evaluated *in vitro* on *HsPim-1* and *HsPim-2*, and on a panel of mammalian kinases to determine their selectivity profile, providing useful insight into structure-activity relationships (SAR) studies. Finally, *in vitro* studies of the most potent inhibitors on the human chronic (KU812, K562) and acute (MV4-11) myeloid leukemia cell lines confirmed their interest, with antitumor activities at micromolar concentrations.



Keywords: Pim, kinase, small molecule, quinoxaline.

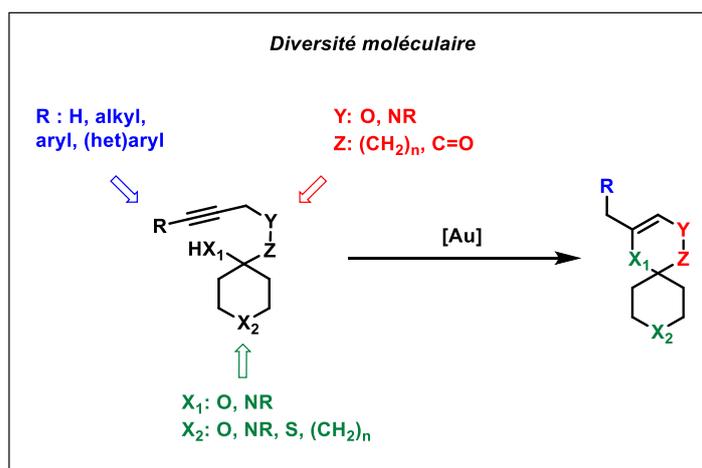
Méthodologie de synthèse d'hétérospirocycles pour la diversité moléculaire et la chimie médicinale

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

Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA), UMR 7311, Université d'Orléans.

kossi-efouako.soklou@univ-orleans.fr

La recherche de nouvelles molécules actives a depuis toujours été une force motrice vers l'exploration toujours croissante de nouveaux espaces chimiques. Dans cette exploration, l'avantage systématique des fragments 3D sur les fragments 2D, grâce à une plus grande couverture de l'espace chimique, a été mis en évidence par de nombreux travaux. Par ailleurs en termes de fragments 3D, les spirocycles représentent un choix encore plus avantageux du fait de leur rigidité moléculaire. Dans l'arsenal thérapeutique, la fréquence toujours plus croissante des hétérospirocycles arborant une jonction directe hétéroatome-carbone spiranique augmente la demande en méthodologies de synthèse générale desdits hétérospirocycles. Ainsi, en partant de dérivés commerciaux de la pipéridone et d'une molécule naturelle, l'acide quinique, 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. Grâce à la méthodologie de synthèse développée, plusieurs hétérospirocycles ont été obtenus et d'autres encore seront synthétisés afin d'être valorisés dans le cadre de la recherche d'inhibiteurs de LIM Kinases, en cours dans l'équipe.



- 1- M. Aldeghi, S. Malhotra, D. L. Selwood, A. W. E. Chan, *Chem. Biol. Drug Des.*, **2014**, 83, 450-461
- 2- F. Lovering, J. Bikker, C. Humblet, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 6752-6756

Mots-clés: Spirocycles, Catalyse, Or

MariLine : Valorisation de la biodiversité structurale issue de populations sauvages et cultivées de Chardon Marie pour des applications Cosmétiques

Hano Christophe^{1*}, Samantha Drouet¹, Jean Raymond Vanier², Éric Lainé¹

1 Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures - INRA USC1328 / Université Orléans
2 Plantes Médicinales et Aromatiques 28 (PMA28)

* hano@univ-orleans.fr

Que ce soit en termes de santé publique, de protection de l'environnement ou d'image, il est nécessaire de trouver rapidement une alternative à certains composés de synthèse encore trop largement utilisés. Le monde végétal représente une source abondante de substances aux propriétés cosmétiques inexplorées. Le chardon Marie, seul représentant du genre *Silybum*, accumule une large gamme de composés phytochimiques originaux et valorisables, notamment par la filière cosmétique.

Le projet MariLine (2016-2019) avait pour objectif d'exploiter pleinement les possibilités offertes par cette plante au travers de la caractérisation fine de la biodiversité structurale d'extraits issus de populations sauvages et de variétés agricoles locales en termes de profils d'accumulation en composés originaux valorisables en tant que bioactifs antioxydants, anti-âges et/ou anti-inflammatoires dans des gammes de produits cosmétiques naturels.

Pour cela, ce projet, financé dans le cadre du programme ARD2020 CosmétoSciences de la Région Centre-Val de Loire, ambitionnait l'identifier des génotypes sauvages ou cultivés les plus favorables pour les différentes applications visées, l'élucidation des mécanismes moléculaires conduisant à l'accumulation de ces composés afin d'orienter les choix de cultures vers des conduites efficaces et respectueuses de l'environnement, l'amélioration de leur extraction par des méthodes de chimie verte, et enfin l'objectivation d'activités biologiques d'intérêt pour la filière cosmétique.

Ce projet a ainsi conduit : 1) à l'analyse fine de la variabilité naturelle en matière de profils d'accumulation en flavonolignanes de populations sauvages et cultivées de Chardon Marie, 2) au développement de méthodes d'extraction écoresponsables efficaces et sélectives, 3) à l'élucidation des conditions d'accumulation (régulation) permettant d'envisager des stratégies d'orientation métabolique naturelles, 4) à l'élucidation des propriétés antioxydantes, anti-âges et anti-inflammatoires des extraits et l'identification des composés bioactifs.

Combined cell-surface display technology and metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for xylitol production and nanofibrillation of lignocellulosic biomass

G. Guirimand^{1,2,7,†}, D. Navarro⁶, M. Haon⁶, K. Inokuma^{1,2}, T. Bamba¹, K. Morita^{3,4}, Y. Kitada¹, Y. Kobayashi¹, T. Yukawa¹, I. Gimbert⁶, S. Grisel⁶, K. Sasaki^{1,2}, C. Ogi-no^{2,3}, J.-G. Berrin⁶, T. Hasunuma^{1,2,3,5} and A. Kondo^{1,2,3,5}

1 :Grad. Sch. of Sci., Technol. & Innov., Kobe Univ., Kobe, Japan

2 :Eng. Biol. Research Center, Kobe Univ., Kobe, Japan

3 :Dpt of Chem. Sci. & Eng., Grad. Sch. of Eng., Kobe Univ., Kobe, Japan

4 :Research Facility Center for Sci. & Technol., Kobe Univ., Kobe, Japan

5 :Biomass Eng. Program, RIKEN, Yokohama, Japan

6 :INRA, Aix-Marseille Univ., UMR 1163, Biodiv. & Biotechnol. of Fungi, Marseille, France

7 :Tours Univ., EA2106-BBV, UFR Sci. & Tech., Tours, France; †LE STUDIUM RESEARCH FELLOW, Loire Valley Institute for Advanced Studies

E-mail: gregory.guirimand@univ-tours.fr

Xylitol is a highly valuable commodity chemical, widely used in both the food and pharmaceutical industries. Industrial production of xylitol from purified D-xylose involves a costly and polluting catalytic process. Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic waste may therefore constitute an advantageous option [1, 2]. In this study, xylitol was produced from Kraft pulp by using a recombinant *S. cerevisiae* YPH499 strain over-expressing cytosolic xylose reductase (XR), along with β -D-glucosidase (BGL), xylosidase (XYL) and xylanase (XYN) enzymes co-displayed on the cell surface, in combination with two different lytic polysaccharide monoxygenases (LPMOs) respectively from the AA9, and AA14 families [3, 4]. These two LPMOs led to a significant improvement of the xylitol production, as well as increased biomass nanofibrillation (Fig.1).

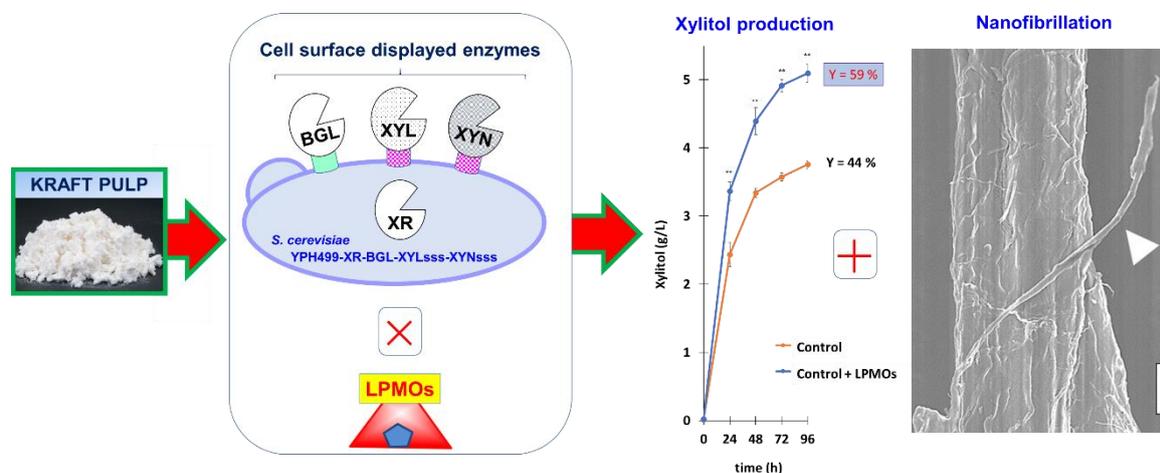


Figure 1. Schematic representation of the combined action of cell-surface engineered strain of *S. cerevisiae* and LPMOs for xylitol production and nanofibrillation of Kraft pulp. Arrow head shows a cellulose nanofibrille. Bar = 5 μ m

[1] Guirimand G., Inokuma K., Bamba T., *et al.*, *Green Chem.* **2019**, DOI: 10.1039/C8GC03864C

[2] Guirimand G., Bamba K., Matsuda M., *et al.*, *Biotech. J.* **2019**, DOI: 10.1002/biot.201800704.

[3] Villares A., Moreau C., Bennati-Granier C., *et al.*, *Sci Rep* **2017**, 7:40262.

[4] Couturier M., Ladevèze S., Sulzenbacher G., *et al.*, *Nature Chem. Biol.* **2018**, 14, 306–310.

Keywords: Arming yeast, consolidated bioprocessing, lignocellulose, nanofibrillation.

Interactions moléculaires avec la paroi cellulaire bactérienne

Jean-Pierre Simorre

Institut de Biologie Structurale Grenoble, France

The cell wall is essential for the survival of bacteria. It gives the bacterial cell its shape and protects it against osmotic pressure, while allowing cell growth and division. It is made up of peptidoglycan (PG), a biopolymer forming a multi-gigadalton bag-like structure, and additionally in Gram-positive bacteria, of covalently linked anionic polymers called wall teichoic acids (WTA).

The machinery involved in the synthesis of this envelop is crucial and is one of the main antibiotic target. Different proteins as transpeptidase, transpeptidase activator or hydrolase are recruited to maintain the morphogenesis of the peptidoglycan during the bacterial cell cycle. Based on few examples involved in the machinery of synthesis of the peptidoglycan, we will demonstrates that a combination of liquid and solid-state NMR can be a powerful tool to characterize cell-wall interacting proteins in vitro and on cell.

Pitches

1- Capacité de l'imagerie multimodale de l'os sous chondral pour la prédiction de l'évolution structural dans la gonarthrose

Nourhene SOULI, Eric LESPESSAILLES, Rachid JENNANE

Poster PC30- Filière C

2-Chromophoric Nanobeads for Photoacoustic and Near-infrared Luminescence Imaging

Kovalenko Anton, Eliseeva Svetlana V., Petoud Stéphane

Poster PC24- Filière C

3- A mitochondria-derived metabolite restricts influenza virus infection by disrupting the viral replication cycle

Adeline CEZARD, Déborah BREA, Antoine GUILLON, Thomas BARANEK, Lydie NADAL, Jérôme BOURGEGAIS, Frédéric PICOU, Julien GAILLARD, Olivier HERAULT, Nadia NAFFAKH, Ronan LE GOFFIC and Mustapha SI-TAHAR

Poster PB11- Filière B

4- Etude du stress oxydant dans les conditions réelles d'oxygénation de la peau : la physioxie

Nadira CHETTOUH-HAMMAS, Giovanni BUSCO, Fabienne FASANI, Catherine GRILLON

Poster PC21- Filière C

5- 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

Poster PA5- Filière A

6- Nano-encapsulation intelligente d'actifs cosmétiques

Louise Van Gheluwe, Eric Buchy, Sonia Asstito, Martin Soucé, Katel Hervé-Aubert, Igor Chourpa, Emilie Munnier

Poster PE44- Filière E

7- Impact de la protéine virale IFITM3 sur les glycoprotéines d'enveloppe du VIH1

Aurelie DROUIN, Mélanie BOUVIN-PLEY, Martine BRAIBANT

Poster PB13- Filière B

8- Etude des profils pharmacologiques des nAChRs de la tique Ixodes ricinus par une technique de microtransplantation de protéines transmembranaires

Anaïs LE MAUFF

Poster PC26- Filière C

9- Srn024, un petit ARN nécessaire à la croissance bactérienne chez le pathogène Streptococcus agalactiae

Nancy Jabbour, Aurélia Hiron, Sophie Poussing et Marie-Frédérique Lartigue

Poster PB16- Filière B

10- 17f derivatives, synthesis and biological evaluation of new inhibitors targeting STAT5 proteins in myeloid leukemias treatment

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

Poster PE43- Filière E

11- Caractérisation des sites de liaison de PGBD5, Approche in silico

Laura Helou, Linda Beauclaire, Florian Guillou, Yves Bigot

Poster PD35- Filière D

12- Rôle de la protéine SETMAR dans les glioblastomes et cellules souches de glioblastomes

Oriane LIÉ, Ilyess ZEMMOURA, Corinne AUGÉ-GOUILLOU

Poster PA8- Filière A

13- Effets d'une activité physique contrôlée sur la condition physique, la composition corporelle et la qualité de vie de femmes obèses opérées d'une chirurgie bariatrique

Marine ASSELIN, Katia COLLOMP, Elise MONGEOIS, Virgile AMIOT, Nancy VIBAREL-REBOT

Poster PC20- Filière C

14- Etude du mécanisme d'endocytose du virus de l'Hépatite B

Charline Herrscher, Florentin Pastor, Emmanuelle Blanchard, Christophe Hourieux, Hugues de Rochigny, Florian Seigneuret, Julien Gaillard, Philippe Roingeard

Poster PB15- Filière B

15- Exploring Rho helicase activity for the purpose of synthetic regulation

Isabelle Simon, Annie Schwartz, Mildred Delaleau, Marc Boudvillain

Poster PC29- Filière C

16- Effets d'extraits de pépins de raisins sur les paramètres métaboliques chez les poules reproductrices de souche chair

Barbe Alix, Mellouk Namy, Ramé Christelle, Grandhaye Jérémy, Venturi Eric, Cirot Marine, Staub Christophe, Petit Angélique, Anger Karine, Chahnamian Marine, Ganier Patrice, Callut Olivier, Cailleau-Audouin Estelle, Metayer-Coustard Sonia, Mairel François, Riva Antonella, Froment Pascal, Dupont Joëlle

PD31- Filière D

17- Site-specific conjugation of auristatins onto engineered antibody fragments to target Her2-positive breast cancer in vitro

Imène Ait Mohamed Amar, Nicolas Aubrey, Emilie Allard-Vannier, Juliette Lamamy, Clément Gautron, Catherine Horiot, Louis Jolivet, Stéphanie Letast, Camille Martin, Cyril Colas, Zineb Lakhri, Isabelle Dimier-Poisson, Igor Chourpa, Marie-Claude Viaud-Massuard and Nicolas Joubert

Poster PE38- Filière E

18- Synthèse et fonctionnalisation de nouveaux hétérocycles fusionnées à motif quinuclidine

Mazarine LAURENT, Sylvain ROUTIER, Frédéric BURON

Poster PC25- Filière C

19- Nanomedecines fonctionnalisées par un scfv anti-EGFR pour le ciblage actif des cellules de cancer du sein triple négatif

Vinh NGUYEN, Katel Hervé-Aubert, Nicolas Aubrey, Igor Chourpa, Emilie Allard-Vannier

Poster PE41- Filière E

Posters

Filière A

PA1- Etude protéomique et fonctionnelle des couches interne et externe de la membrane vitelline de l'œuf de poule

Mégane Bregeon, Benoît Bernay, Valérie Labas, Magali Chessé, Céline Zatylny-Gaudin, Sophie Réhault-Godbert, Nicolas Guyot

PA2- Etude de la pathogénicité des fragments TDP-43 dans la Sclérose Latérale Amyotrophique

Chami A, Hergesheimer R, Corcia P, Andres C, Martineau P, Blasco C, Vourc'h P

PA3- Identification d'un nouveau gène de déficience intellectuelle : SEMA6B

Amélie Cordovado, Médéric Jeanne, Rose-Anne Thepault, Frédéric Laumonnier, Annick Toutain, Marie-Laure Vuillaume Winter

PA4- The role of the auxiliary NaV β 4 subunit in maintaining epithelial phenotype

Adélaïde Doray, Lucie Brisson, Stéphanie Chadet, Lucile Poisson, Osbaldo Lopez Charcas, Caroline Goupille, Lobna Ouldamer, Christophe Baron, Pierre Besson, Sébastien Roger

PA5 et Pitch5- 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

PA6- L'interaction entre le canal calcique ORAI3 et la protéine STIM2 et son impact sur la survie des cellules cancéreuses prostatiques

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

PA7- Trio Affaire: Three functional tabersonine 16-O-methyltransferase isoforms adds a new complexity level on vindoline's pathway in Catharanthus roseus

Pamela Lemos Cruz, Ines Carqueijeiro, Thibaut Munsch, Audrey Oudin, Thomas Dugé de Bernonville, Konstantinos Koudounas, Sébastien Besseau, Nathalie Giglioli-Guivarc'h, Marc Clastre, Vincent Courdavault

PA8 et Pitch12- Rôle de la protéine SETMAR dans les glioblastomes et cellules souches de glioblastomes

Oriane LIÉ, Ilyess ZEMMOURA, Corinne AUGÉ-GOUILLOU

PA9- Réponses aux lésions d'ischémie/reperfusion et dysfonction vasculaire : Rôle du récepteur purinergique P2Y11

M. Piollet, C. Lefort, S. Chadet, L. Benoist, D. Muntean, O. Duicu, A. Sturza, D. Angoulvant, F. Ivanec

PA10- Utilisation de NaDES pour la valorisation de biomasses microalgales à visée dermatologique

L. Wils, C. Leman-Loubière, N. Bellin, B. Clément-Larosière, C. Enguehard-Gueiffier, C. Bodet, L. Boudesocque-Delaye

Filière B

PB11 et Pitch3- A mitochondria-derived metabolite restricts influenza virus infection by disrupting the viral replication cycle

Adeline CEZARD, Déborah BREA, Antoine GUILLON, Thomas BARANEK, Lydie NADAL, Jérôme BOURGEAIS, Frédéric PICOU, Julien GAILLARD, Olivier HERAULT, Nadia NAFFAKH, Ronan LE GOFFIC and Mustapha SI-TAHAR

PB12- Rôles de la protéine virale pUL47 dans l'excrétion et la transmission horizontale du Virus de la maladie de Marek-MDV

Aurélien Chuard, Caroline Denesvre, David Padeloup

PB13 et Pitch7- Impact de la protéine virale IFITM3 sur les glycoprotéines d'enveloppe du VIH-1

Aurelie DROUIN, Mélanie BOUVIN-PLEY, Martine BRAIBANT

PB14- Caractérisation des récepteurs canaux ioniques dépendants chez le Pou *Pediculus humanus corporis*

Omar HASHIM, Catheririne DUPUY-PAPIN, Françoise Debierre-Grockiego and Isabelle DIMIER-POISSON

PB15 et Pitch14- Etude du mécanisme d'endocytose du virus de l'Hépatite B

Charline Herrscher, Florentin Pastor, Emmanuelle Blanchard, Christophe Hourieux, Hugues de Rochigny, Florian Seigneuret, Julien Gaillard, Philippe Roingeard

PB16 et Pitch9- Srn024, un petit ARN nécessaire à la croissance bactérienne chez le pathogène *Streptococcus agalactiae*

Nancy Jabbour, Aurélia Hiron, Sophie Poussing et Marie-Frédérique Lartigue

PB17- Rôle de la réponse SOS dans le transfert conjugatif et le maintien dans le génome de *Salmonella* Genomic Island 1

Pons Marine, Cloeckart Axel, Doublet Benoît

PB18- EtROP2, une ROP kinase localisée au sein du compartiment des rhoptries et exprimée durant les stades précoces du cycle parasitaire d'*Eimeria tenella*

Adeline Ribeiro E Silva, Alix Sausset, Yves Le Vern, Fabrice Laurent, Sonia Lacroix-Lamandé, Anne Silvestre

PB19- Étude de l'interaction entre le virus de l'Hépatite E et les acteurs du métabolisme des lipides

Yannick Treguier, Anne Bull-Maurer, Philippe Roingeard, Jean-Christophe Meunier

Filière C

PC20 et Pitch13- Effets d'une activité physique contrôlée sur la condition physique, la composition corporelle et la qualité de vie de femmes obèses opérées d'une chirurgie bariatrique

Marine ASSELIN, Katia COLLOMP, Elise MONGEOIS, Virgile AMIOT, Nancy VIBAREL-REBOT

PC21 et Pitch4- Etude du stress oxydant dans les conditions réelles d'oxygénation de la peau : la physioxie

Nadira CHETTOUH-HAMMAS, Giovanni BUSCO, Fabienne FASANI, Catherine GRILON

PC22- Ce peuplier, quelle bonne pâte (à papier)

Clément Cuello, Françoise Laurans, Véronique Lainé-Prade, Camille Grand-Perret, Marie-Claude Lesage-Descauses, Vincent Segura, Romaric Monteil, Gilles Pilate, Annabelle Déjardin

PC23- Développement de nouveaux dendrimères G3 pour l'imagerie optique dans le proche infrarouge

Kamal Jouad, Svetlana V. Eliseeva, Guillaume Collet, Nabil El Brahmi, Mohamed Akssira, Marie-Aude Hiebel, Stéphane Petoud, Saïd El Kazzouli and Franck Suzenet

PC24 et Pitch2- Chromophoric Nanobeads for Photoacoustic and Near-infrared Luminescence Imaging

Kovalenko Anton, Eliseeva Svetlana V., Petoud Stéphane

PC25 et Pitch18- Synthèse et fonctionnalisation de nouveaux hétérocycles fusionnées à motif quinuclidine

Mazarine LAURENT, Sylvain ROUTIER, Frédéric BURON

PC26 et Pitch8- Etude des profils pharmacologiques des nAChRs de la tique Ixodes ricinus par une technique de microtransplantation de protéines transmembranaires

Anaïs LE MAUFF

PC27- Imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazoles : conception et synthèse de nouveaux inhibiteurs doubles des kinases DYRK1A/CLK1

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

PC28- Mise en place d'une plateforme de criblage bioluminescente, microARNs spécifique, pour l'identification de nouvelles structures bioactives d'intérêt biologique et cosmétique

Clémentine Pescheteau, Matthieu Place, Chloé Copin, Stéphane Bourg, Pascal Bonnet, Sandrine Ruchaud, Frédéric Buron, Sylvain Routier

PC29 et Pitch15- Exploring Rho helicase activity for the purpose of synthetic regulation

Isabelle Simon, Annie Schwartz, Mildred Delaleau, Marc Boudvillain

PC30 et Pitch1- Capacité de l'imagerie multimodale de l'os sous chondral pour la prédiction de l'évolution structural dans la gonarthrose

Nourhene SOULI, Eric LESPESSAILLES, Rachid JENNANE

Filière D

PD31 et Pitch16- Effets d'extraits de pépins de raisins sur les paramètres métaboliques chez les poules reproductrices de souche chair

Barbe Alix, Mellouk Namya, Ramé Christelle, Grandhaye Jérémy, Venturi Eric, Cirot Marine, Staub Christophe, Petit Angélique, Anger Karine, Chahnamian Marine, Ganier Patrice, Callut Olivier, Cailleau-

Audouin Estelle, Metayer-Coustard Sonia, Mairel François, Riva Antonella , Froment Pascal, Dupont Joëlle

PD32- Effets d'une adipocytokine, la chémérine sur des cellules de Sertoli chez le poulet

Bourdon Guillaume, Estienne Anthony, Grandhaye Jérémy, Barbe Alix, Ramé Christelle, Jean-Pierre Eric1, Froment Pascal, Dupont Joelle

PD33- Bisphenol S affects in vitro early developmental oocyte competence in ewe

DESMARCHAIS Alice, TETEAU Ophélie, PAPILLIER Pascal, Manon Jaubert, Xavier Druart, Aurélien Binet, Virginie Maillard, ELIS Sébastien

PD34- AdipoRon, un agoniste de l'adiponectine, réduit la prolifération et la stéroïdogénèse des cellules de granulosa

Grandhaye Jeremy, Plotton Ingrid, Floriane Levasseur, Hmadeh Sandy, Anthony Estienne, LeGuevel Remy, Ramé Christelle, Fabrice Guerif, Dupont Joëlle, Froment Pascal

PD-35 et Pitch11- Caractérisation des sites de liaison de PGBD5, Approche in silico

Laura Helou, Linda Beauclaire, Florian Guillou, Yves Bigot

PD36- Premier atlas IRM de l'encéphale de caille japonaise pour l'étude des connexions cérébrales de deux lignées divergentes STI et LTI

Marine Siwiaszczyk, Raïssa Yebga Hot, Mélody Morisse, Cyril Poupon, Ludovic Calandreau, Baptiste Mulot, Scott Love, Elodie Chaillou

PD37- Bisphénol S versus Bisphénol A et la fonction de reproduction femelle : effets sur les cellules de granulosa ovines primaires in vitro

Ophélie Têteau, Manon Jaubert, Alice Desmarchais, Pascal Papillier, Sébastien Elis

Filière E

PE38 et Pitch17- Site-specific conjugation of auristatins onto engineered antibody fragments to target Her2-positive breast cancer in vitro

Imène Ait Mohamed Amar, Nicolas Aubrey, Emilie Allard-Vannier, Juliette Lamamy, Clément Gautron, Catherine Horiot, Louis Jolivet, Stéphanie Letast, Camille Martin, Cyril Colas, Zineb Lakhfir, Isabelle Dimier-Poisson, Igor Chourpa, Marie-Claude Viaud-Massuard and Nicolas Joubert

PE39- Cleavage of therapeutic monoclonal antibodies hinge region : more than a subclass story

Quentin Deveuve, Laurie Lajoie, Benjamin Barrault, Gilles Thibault

PE40- Inhaled Nanocarrier / Antisense Therapy for Pulmonary Fibrosis A multidisciplinary European projec

Coralie Mergault, Gilles Divita, Benoit Erra, Sandrine Le Guellec, Jonas Renz, Otmar Schmid, Rita Vanbever, Dimitris Visvikis, Nathalie Heuzé-Vourc'h, Laurent Plantier

PE41 et Pitch19- Nanomedecines fonctionnalisées par un scfv anti-EGFR pour le ciblage actif des cellules de cancer du sein triple négatif

Vinh NGUYEN, Katel Hervé-Aubert, Nicolas Aubrey, Igor Chourpa, Émilie Allard-Vannier

PE42- Nanosondes pour SERS bioanalytique dans le proche IR

Mathias Pacaud, Katel Hervé-Aubert, Martin Soucé, Amir Fahmi, Alexey Feofanov, Anastasia Ignatova
Igor Chourpa

PE43 et Pitch10- 17f derivatives, synthesis and biological evaluation of new inhibitors targeting STAT5 proteins in myeloid leukemias treatment

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

PE44 et Pitch6- Nano-encapsulation intelligente d'actifs cosmétiques

Louise Van Gheluwe, Eric Buchy, Sonia Asstito, Martin Soucé, Katel Hervé-Aubert, Igor Chourpa, Emilie Munnier

Posters de participants hors filière**P45- Identification de gènes impliqués dans la fonction testiculaire des vertébrés et des invertébrés par phylogénie moléculaire et analyse expressionnelle**

C Lécureuil, S Fouchécourt, P Monget

P46- Approches de génomique comparative et de métagénomique chez les patients atteints de mucoviscidose colonisés par *Aspergillus fumigatus* et traités par triazolés

Baptiste Bidon, Jose Felipe Munoz, Jean-Philippe Bouchara, Christina A. Cuomo, Nicolas Papon, Jean-Pierre Gangneux

POSTERS

Etude protéomique et fonctionnelle des couches interne et externe de la membrane vitelline de l'œuf de poule

Mégane Bregeon¹, Benoît Bernay², Valérie Labas³, Magali Chessé¹, Céline Zatylny-Gaudin⁴, Sophie Réhault-Godbert¹, Nicolas Guyot¹

¹ UMR BOA, INRA, Université de Tours, INRA Centre Val de Loire, 37380, Nouzilly, France.

² Proteogen platform, SFR 4206 ICORE, Normandie Université, UNICAEN, 14032, Caen Cedex, France.

³ UMR PRC, INRA, CNRS, IFCE, Université de Tours, INRA Centre Val de Loire, 37380, Nouzilly, France.

⁴ UMR Biologie des Organismes et Ecosystèmes Aquatiques (BOREA), Normandie Université, UNICAEN, Alliance Sorbonne Université, MNHN, UA, CNRS, IRD, 14032, Caen Cedex, France

La membrane vitelline (MV) de l'œuf de poule est une membrane protéique acellulaire située à l'interface du blanc et du jaune. En reproduction aviaire, elle est impliquée dans l'interaction entre l'ovocyte et les spermatozoïdes au moment de la fécondation, dans le développement embryonnaire précoce ainsi que dans la protection physique et antimicrobienne de l'embryon. Elle contribue de ce fait à la qualité des œufs à couver et au bon développement des embryons ainsi qu'à la qualité des œufs de consommation (non fécondés). La MV est constituée d'une couche interne (MVI) en contact avec le jaune et d'une couche externe (MVE) en contact avec le blanc. À ce jour, environ 140 protéines différentes ont été identifiées dans la MV ; cependant, la distribution de ces protéines entre la MVI et la MVE reste à élucider. La présente étude vise à enrichir le répertoire des protéines connues dans la MV et à comparer la composition en protéines de la MVI et de la MVE afin de préciser leurs fonctions respectives.

La MVI et la MVE ont été séparées manuellement à partir de MV d'œufs fraîchement pondus et les protéines de ces deux couches ont été solubilisées indépendamment et analysées par SDS-PAGE et GeLC-MS / MS. Plus de 550 protéines ont été identifiées dans l'ensemble de la MV. Environ 410 et 340 protéines ont été identifiées dans la MVI et la MVE, respectivement, dont certaines sont retrouvées dans les deux couches tandis que d'autres sont spécifiques de l'une ou l'autre des deux couches. Les données préliminaires résultant de l'annotation fonctionnelle des protéines (ontologie des gènes / bibliographie) révèlent la présence de nombreuses protéines associées non seulement à la fécondation et à la défense antimicrobienne, mais aussi à de nombreuses autres fonctions biologiques telles que l'adhérence et la migration cellulaires, le métabolisme et la morphogenèse, etc. Les résultats de cette étude témoignent de la complexité des rôles joués par la MV dans l'œuf et le développement embryonnaire précoce de l'oiseau. Ces résultats sont actuellement complétés par une analyse expressionnelle des protéines de la MV afin de préciser leur lieu et leur spécificité tissulaire de synthèse.

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

Etude de la pathogénicité des fragments TDP-43 dans la Sclérose Latérale Amyotrophique

Chami A (1), Hergesheimer R (1), Corcia P (1,3), Andres C (1,2), Martineau P (4) , Blasco C (1,2),
Vourc'h P (1,2).

(1) UMR 1253, iBRAIN, Université de Tours, Inserm, Tours, France ; (2) CHU de Tours, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Tours, France ; (3) CHU de Tours, Service de Neurologie, Tours, France ; (4) IRCM, Montpellier, France; Inserm, U896.

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative caractérisée par une perte des motoneurones. La formation d'agrégats protéiques dans ces motoneurones est impliquée dans la pathogenèse de la maladie. La protéine TDP-43 (TAR DNA-binding protein) est une protéine majeure de ces agrégats. Cette protéine nucléaire est en effet retrouvée délocalisée dans le cytoplasme où elle est ubiquitinée, hyperphosphorylée et s'agrège.

Les études post-mortem de patients atteints de SLA ont identifié plusieurs formes tronquées de la protéine TDP-43. Les propriétés biochimiques et rôles de ces fragments sur la dégénérescence motoneuronale restent mal compris. Nous nous intéressons aux fragments générés par coupure au niveau de cinq sites de clivage majeurs. Nous avons identifié chez un patient SLA une nouvelle mutation (p.N291H) dans l'un de ces sites, connu pour être clivé par une asparaginyl endopeptidase (AEP). Nous avons cloné dans des plasmides les séquences codant les fragments TDP-43. La surexpression de certains fragments est associée à la présence d'agrégats protéiques. Nous étudions actuellement leur distribution subcellulaire puis nous analyserons la conséquence de leur expression sur la longueur des neurites, le fonctionnement mitochondriale et la viabilité cellulaire dans des lignées motoneuronales NSC-34 et dans des cultures primaires de motoneurones.

En parallèle de ces travaux, nous avons identifié par phage-display des intracorp (scFv) capables de se lier à la protéine TDP-43 mature. Nous cherchons à caractériser si certains de ces intracorp sont également capables de se lier aux formes clivées de TDP-43 et d'en diminuer l'agrégation et la toxicité. Ces travaux, qui s'inscrivent dans le programme Biomédicaments de la Région Centre Val-de-Loire, permettront de mieux comprendre le rôle des fragments TDP-43 dans la physiopathologie de la SLA et d'ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques.

Mots-clés : TDP-43, agrégats, formes tronquées, neurodégénération

Identification d'un nouveau gène de déficience intellectuelle : **SEMA6B**

Amélie Cordovado, Médéric Jeanne, Rose-Anne Thepault, Frédéric Laumonier, Annick Toutain,

Marie-Laure Vuillaume Winter

Inserm U1253 – CHRU Bretonneau – Tours, France

La déficience intellectuelle (DI) est un trouble neuro-développemental fréquent touchant 1 à 3% de la population et d'origine majoritairement génétique. Pour identifier de nouveaux gènes candidats dans la DI, une approche par séquençage à haut débit d'exome a été conduite chez des patients présentant une DI sévère. Plusieurs variations *de novo* de type faux-sens et non-sens ont ainsi été identifiées dans le gène *SEMA6B* codant la protéine sémaphorine 6B, une protéine chimioréulsive inhibant la croissance axonale lors du développement du système nerveux central. Afin de démontrer l'implication de ce gène dans un phénotype neurodéveloppemental, nous avons initié des études fonctionnelles en générant des constructions plasmidiques contenant la forme sauvage ou mutée du gène *sema6b* (cDNA murin). Ces constructions ont été surexprimées dans des lignées cellulaires (HEK293T) puis dans des cultures primaires de neurones hippocampiques. Dans un premier temps, nous avons évalué l'impact de ces mutations sur la stabilité et la localisation subcellulaire de la protéine par Western Blot dans les cellules HEK293T et par immunocytochimie dans les cellules HEK293T et les cultures neuronales. Les conséquences induites par les variations du gène *sema6b* sur la morphogenèse et la synaptogenèse sont également en cours d'évaluation via l'étude de différents paramètres neuronaux tels que la morphologie, l'arborisation dendritique ou encore la densité synaptique dans les cultures de neurones après analyse en microscopie confocale. Les résultats préliminaires ne montrent pas d'impact des différentes variations sur la stabilité et la localisation subcellulaire de la protéine que ce soit dans les lignées cellulaires HEK293T ou dans les neurones. En revanche, les variations de type non-sens semblent altérer la morphologie neuronale. En effet, l'arborisation neuronale semble moins développée avec moins de prolongements dendritiques et d'épines dendritiques. Ces résultats préliminaires suggèrent que l'expression résiduelle d'une protéine tronquée SEMA6B pourrait altérer la morphogenèse neuronale. La poursuite de ces études fonctionnelles devrait nous permettre de statuer sur la pathogénicité de ces variations et plus largement de caractériser le rôle de la sémaphorine 6B dans la physiopathologie de la DI.

Mots clés : Déficience Intellectuelle, SEMAPHORIN6B, études fonctionnelles, séquençage à haut débit d'exomes, guidage axonal, neurodéveloppement

The role of the auxiliary NaV β 4 subunit in maintaining epithelial phenotype

Adélaïde Doray¹, Lucie Brisson², Stéphanie Chadet¹, Lucile Poisson¹, Osbaldo Lopez Charcas¹, Caroline Goupille², Lobna Ouldamer², Christophe Baron¹, Pierre Besson², Sébastien Roger¹

1, University of Tours, EA4245, Tours, France

2, University of Tours, Inserm UMR1069, Tours, France

Cancer metastasis is the main cause for the high mortality attributed to carcinomas. As such, understanding the cellular mechanisms leading to metastases development is crucial. Our team has described the SCN4B gene, and its expression product, the NaV β 4 auxiliary subunit of voltage-gated sodium channels (NaV), to be implicated in the invasive progression of breast cancer, independently of NaV subunit (Bon et al., Nat Commun 2016).

SCN4B is highly expressed in epithelial cells of normal breast, but is reduced in breast cancer tissues and cells. SCN4B is reduced in grades II and III compared to grade I, and is lower in HER2 and triple-negative compared to luminal A and B breast tumours. In vitro, the loss of SCN4B expression is responsible for the acquisition of a very aggressive mesenchymal-amoeboïd hybrid phenotype and promotes breast cancer cell invasiveness. Correlatively, the overexpression of NaV β 4 reduces breast cancer cell invasiveness and mammary tumour progression in animal models.

Recently, we have generated several clones of MCF-10A non-cancer mammary cells knocked-down the expression of SCN4B (CRISPR-Cas9) and have identified important morphological changes, with the loss of their epithelial phenotype. Our objectives are to understand the mechanisms leading to these phenotypical changes in epithelial cells when SCN4B expression is reduced, and to study consequences on the epithelial function and carcinogenesis. Our preliminary results showed that the loss of NaV β 4 in normal breast cells decreased both total and plasma membrane expression of the cell adhesion protein β -catenin, as observed in western blotting and immunocytochemistry experiments, but not at the transcriptional level (RT-qPCR). The use of MG132 (10 μ M) partially restored β -catenin levels in SCN4B-knocked-out MCF-10A cells, suggesting that NaV β 4 could prevent β -catenin degradation by the proteasome. A similar effect was observed in MCF-10A cells transiently knocked-down for the expression of NaV β 4 (siRNA). In MDA-MB-231 breast cancer cells stably knocked-down for the expression of NaV β 4 (CRISPR-Cas9), the expression of β -catenin is slightly reduced at both protein (western blot) and mRNA (RT-qPCR) levels, as compared to control MDA-MB-231 cells (wild-type cells). The functional link between NaV β 4 and β -catenin remains unclear and is currently studied.

Mots-clés : SCN4B, breast cancer, epithelial cells.

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^{er} domaine transmembranaire (Pro32) ou dans la 1^{ère} 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.

Mots-clés : Déficience intellectuelle, trouble du spectre autistique, neurones, culture primaire, *PTCHD1*, immunofluorescence

L'interaction entre le canal calcique ORAI3 et la protéine STIM2 et son impact sur la survie des cellules cancéreuses prostatiques

Kouba S.¹ Buscaglia P.² Guéguinou M.³, Félix R.¹, Guibon R.¹, Fromont G.¹, Chantôme A.¹, Capiod T.⁴, Vandier C.¹, Potier-Cartereau M.¹ and Mignen O.²

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

2. Inserm U1227, Université de Bretagne Occidentale, Brest

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

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

Le calcium (Ca^{2+}) intracellulaire est un second messager qui régule la transcription des gènes, la progression du cycle cellulaire, la prolifération et l'apoptose. Dans le cancer de la prostate (CaP), la signalisation calcique est altérée et contribue à la croissance et à la progression tumorale. Pour mieux comprendre leur rôle dans le CaP, certains travaux se sont focalisés sur les canaux calciques de type ORAI et leurs régulateurs STIM1/STIM2 (Stromal Interaction Molecules) impliqués dans les entrées de Ca^{2+} capacitive (SOCE : entrée de Ca^{2+} dépendante de la vidange du Reticulum endoplasmique des stocks calciques) ou constitutive. Nos travaux récents ont montré que le canal calcique ORAI3 et la protéine STIM2 sont fortement exprimés dans un modèle de souris de CaP (KIMAP) ainsi que chez des patients atteints de CaP. La première étape était de savoir s'il existe une interaction possible entre ORAI3 et STIM2 aboutissant à une entrée de Ca^{2+} pouvant être impliquée dans la prolifération, la survie ou la migration. *In vitro*, des expériences de Co-IP et de Proximity Ligation Assay, réalisées sur une lignée de CaP (PC3), ont montré une interaction entre ORAI3 et STIM2. L'invalidation de l'expression de STIM2 a diminué la viabilité et la prolifération des PC3, ainsi que l'amplitude de l'entrée de Ca^{2+} constitutive associée à l'interaction Orai3/STIM2, mais n'a eu aucun effet sur l'entrée SOCE. De la même façon, la diminution d'expression d'Orai3 a induit une diminution de la viabilité et de la prolifération des PC3, mais a considérablement augmenté SOCE. Aucun effet de l'invalidation de STIM2 n'a été observé sur le cycle cellulaire ; cependant, l'inhibition d'ORAI3 a bloqué les cellules en phase G2/M avec une accumulation de la forme inactive du complexe CDK1/CyclinB1. Les prochaines étapes seront de déterminer 1) si ce blocage en G2/M, suite à l'invalidation d'expression d'ORAI3, est dû à une forme de mort cellulaire peu caractérisée, connue sous le nom de catastrophe mitotique. 2) Le rôle de la protéine STIM2 et de son interaction avec ORAI3 dans cette mort cellulaire.

Mots-Clés : Cancer de la Prostate, Ca^{2+} , Orai3, STIM2, CDK1/Cycline B1, cycle cellulaire, Survie

Trio Affaire: Three functional tabersonine 16-O-methyltransferase isoforms adds a new complexity level on vindoline's pathway in *Catharanthus roseus*

Pamela Lemos Cruz, Ines Carqueijeiro, Thibaut Munsch, Audrey Oudin, Thomas Dugé de Bernonville, Konstantinos Koudounas, Sébastien Besseau, Nathalie Giglioli-Guivarc'h, Marc Clastre, Vincent Courdavault#

Université de Tours, EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales, 31 avenue Monge, 37200 Tours

vincent.courdavault@univ-tours.fr

Vindoline is an indole alkaloid present in the leaves of *Catharanthus roseus* plant, well-known for being precursor of the anticancer vincristine and vinblastine and recently, to possess an insulotropic and hepatoprotective effects. Due to the high pharmaceutical value of vindoline, the reconstitution and optimization of its biosynthetic pathway in heterologous hosts is hotspot under bioengineering. Here, we describe a promising strategy to overcome the accumulation of 16-hydroxytabersonine on the second step of tabersonine-to-vindoline path in yeast, based on the study of tabersonine 16-O-methyltransferase (16OMT) isoforms of *Catharanthus roseus* and *Vinca minor*. In this study, we identified two candidate isoforms of 16OMT (16OMT2 and 16OMT3) in *C. roseus* besides the already identified first isoform 16OMT1 and one candidate orthologue of 16OMT in *V. minor* (VmOMT) through transcriptomic analyses combined to gene co-expression and homology-based studies. Functional intrinsic activity of all candidates was confirmed in yeast when co-expressed with tabersonine 16-hydroxylase (T16H2) by UPLC-MS analysis. The high similarity's intrinsic activity between *C. roseus* isoforms in addition to the specific S-adenosyl-L-methionine-dependent methylation of 16-Hydroxytabersonine by the denial of other substrates tested for OMT2, evoked a search for a possible mechanism of 16OMT isoforms *in planta*. RT-PCR analyses shows that OMT1 display a similar expression profile to the other vindoline biosynthetic genes, being expressed mostly in young leaves, OMT2 has higher expression level overall, reaching its maximum in fruits, old and young leaves. The precise subcellular localization of OMT1 and OMT2 was investigated using a C-terminal yellow fluorescent protein and both were found at the cytosol of the transformed *C. roseus* cells. Surprisingly, overexpression assays in *C. roseus* leaves of OMT1 and OMT2 revealed an accumulation of the dimeric alkaloid anhydrovinblastine, the precursor of the anticancer drugs and may suggest a bigger and complex MIA pathway regulation to be explored on the near future. Finally, the biosynthetic pathway reconstitution of the two first reaction steps from tabersonine showed that the co-expression of the different OMTs or the duplication of number of copies of the OMTs in yeast revealed a reduction by half of the accumulation of T16H2's product, confirming the potentiality of this co-expression strategy for bioengineering purposes.

Keywords: anticancer, yeast, bioengineering, overexpression, pathway reconstitution

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

Oriane LIÉ¹, Ilyess ZEMMOURA¹, Corinne AUGÉ-GOUILLOU¹

¹ INSERM U1253 – CHRU Bretonneau - Tours, FRANCE

Les glioblastomes (GBMs) 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 la haute résistance de ces tumeurs aux traitements actuels. Les GBMs étant des tumeurs très infiltrantes, des cellules souches de GBM (CSGs) peuvent subsister suite à la résection chirurgicale. Les CSGs, très résistantes à la radiothérapie, sont à l'origine des récurrences. Il est donc important d'identifier les mécanismes de la radiorésistance des CSGs afin d'envisager des améliorations aux thérapies existantes.

SETMAR est une protéine multifonctionnelle, récemment découverte, impliquée dans de nombreux mécanismes associés à la plasticité du génome (réplication, réparation de l'ADN, etc...) et au cœur d'un vaste réseau épigénétique. Son rôle dans la résistance des cellules aux thérapies ionisantes a été documenté dans certains cancers (leucémies, cancers du sein). Notre équipe a montré dans des travaux précédents que la protéine SETMAR (FL-SETMAR) est surexprimée dans les GBMs et une isoforme plus courte de SETMAR (S-SETMAR), jusqu'alors inconnue, y a également été mise en évidence. Les deux isoformes de SETMAR ont des capacités différentes de modelage de la chromatine et de réparation de l'ADN, et leur expression évolue au cours de la biogénèse des GBMs¹. Notre hypothèse est que les deux isoformes de SETMAR jouent un rôle différent dans l'oncogénèse gliale et dans la réponse aux traitements. Afin de sonder le rôle de SETMAR dans l'oncogénèse gliale, nous avons quantifié les deux isoformes de la protéine dans les trois zones macroscopiques de GBMs issus de patients opérés au CHU de Tours. La protéine SETMAR, dans ses deux isoformes, est de plus en plus présente en s'enfonçant au cœur de la tumeur. Cela suggère un rôle précoce de SETMAR dans l'oncogénèse gliale. Par ailleurs, l'analyse des taux de protéine dans les GBMs d'une cohorte de patients aux profils de réponse aux traitements différents est en cours. Ces résultats, complétés par des analyses cellulaires, permettront de définir si SETMAR dans une de ses deux formes est un marqueur pronostique et/ou diagnostique du GBM.

¹ Dussaussois-Montagne et *al.*, 2017. *Oncotarget* 8 : 14218

Mots-clés : glioblastomes, SETMAR, cellules souches cancéreuses

Réponses aux lésions d'ischémie/reperfusion et dysfonction vasculaire : Rôle du récepteur purinergique P2Y11

M. Piollet*¹, C. Lefort¹, S. Chadet¹, L. Benoist¹, D. Muntean², O. Duicu², A. Sturza², D. Angoulvant¹⁻³, F. Ivanes¹⁻³

¹EA4245 Transplantation, Immunologie et Inflammation, Université François Rabelais, Tours, France

²Laboratoire de physiopathologie, Université Victor Babes, Timisoara, Roumanie

³Service de Cardiologie, CHU Trousseau, Tours, France

Introduction : L'apparition d'une dysfonction vasculaire est un processus clé dans la physiopathologie des lésions d'Ischémie/Reperfusion (I/R). L'inflammation stérile et l'activation des Cellules Endothéliales (CE), puis la prolifération et migration vers l'intima des Cellules Musculaires Lisses (CML) contribuent à la formation d'une hyperplasie intimale et à une insuffisance vasculaire. Nous avons montré que l'activation du récepteur purinergique P2Y11 (RP2Y11) a un effet immunomodulateur sur les cellules dendritiques et les cardiofibroblastes en situation d'I/R simulée *in vitro* (Hypoxie/Réoxygénation, H/R).

Objectifs : Etudier la signalisation purinergique sur les réponses aux lésions d'H/R des cellules vasculaires.

Méthode : La vasorelaxation des vaisseaux, le relargage d'H₂O₂ et de NO sont évalués sur des anneaux aortiques de rats (+/- angiotensine II, AngII). Des CML et des CE humaines sont soumises à 5h d'hypoxie puis 1h à 72h de réoxygénation. Différents agonistes et antagonistes sont utilisés pour étudier la signalisation purinergique.

Résultats : L'activation du RP2Y11 réduit la dysfonction vasculaire en condition de stress (+AngII) *via* les CE, en augmentant la capacité de vasorelaxation et la biodisponibilité de NO, tout en diminuant la production d'H₂O₂. Le sécrétome des CE soumises à une H/R augmente la prolifération des CML et l'activation du RP2Y11, exprimé par les deux types cellulaires, diminue cette prolifération. L'activation des CE induite par le TNF α est inhibée en hypoxie et restaurée à la réoxygénation. L'H/R induit sur les CE une augmentation des marqueurs d'adhésion et cytokines pro-inflammatoires. L'ATP reverse l'effet de l'H/R sur l'activation des CE indépendamment du RP2Y11.

Conclusion : Ces résultats suggèrent que la signalisation purinergique, majoritairement *via* RP2Y11, pourrait protéger des lésions d'H/R et réduire la dysfonction vasculaire après I/R.

Mots-clés : Hypoxie/Réoxygénation – Endothélium – Inflammation – Récepteurs Purinergiques

Utilisation de NaDES pour la valorisation de biomasses microalgales à visée dermatologique

L. Wils¹, C. Leman-Loubière¹, N. Bellin², B. Clément-Larosière³, C. Enguehard-Gueiffier¹, C. Bodet², L. Boudesocque-Delaye

¹ EA 7502 SIMBA, UFR Sciences Pharmaceutiques, Université de Tours, 31 avenue Monge 37200 Tours, France

² EA 4331 LITEC, Université de Poitiers, Pôle Biologie Santé 1 rue Georges Bonnet 86073 Poitiers, France

³ Société Dénitral, Groupe COOPERL, 22400 Lamballe, France

Les Cyanobactéries (dont la Spiruline) représentent une source naturelle renouvelable en acides gras libres (FFA), en particulier d'acides gras poly-insaturés (PUFA). Les FFA sont des métabolites recherchés dans le domaine cosmétique pour leur activité anti-inflammatoire et antimicrobienne. A l'heure actuelle, les FFA sont communément extraits par solvants pétrochimiques, toxiques pour la santé humaine et l'environnement. Ce projet a pour objectif de s'affranchir des procédés actuels en développant une méthode d'extraction plus écologique. Ce nouveau procédé fait appel aux NaDES (Natural Deep Eutectic Solvent), des solvants bio-sourcés à fort pouvoir de solubilisation de molécules bioactives.

Le premier axe d'étude consiste à développer deux classes de NaDES, l'une hydrophile, l'autre hydrophobe, afin d'extraire la biomasse microalgale. Les extraits engendrés sont ensuite caractérisés par HPLC-UV et dosages spectrophotométriques pour doser les pigments (chlorophylles, caroténoïdes et phycocyanine), et par UPLC-MS pour quantifier les FFA. Un premier screening de NaDES a été réalisé sur la base de leur sélectivité. Dans un second temps, leur activité biologique a été étudiée. La cytotoxicité des extraits et des solvants a été évaluée sur kératinocytes primaires et sur des souches du microbiote cutané (pathogènes ou commensales) : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Cutibacterium acnes* et sur *Corynebacterium xerosis*. Puis, leur activité inflammatoire a été estimée sur un modèle de stimulation des kératinocytes par *S. aureus*. Les lysats cellulaires et les surnageants de culture ont été analysés par RT-qPCR et dosage ELISA, dans le but de rechercher des marqueurs impliqués dans l'inflammation cutanée. Les données préliminaires générées sont prometteuses, trois extraits montrent une activité antibactérienne tandis qu'un dernier se distingue des autres par son caractère anti-inflammatoire.

Mots-clés : NaDES, acides gras libres, microalgues, procédé d'extraction.

A mitochondria-derived metabolite restricts influenza virus infection by disrupting the viral replication cycle

Adeline CEZARD¹, Déborah BREA^{1,*}, Antoine GUILLON^{1,2,*}, , Thomas BARANEK¹, Lydie NADAL³, Jérôme BOURGEAIS^{4,5}, Frédéric PICOU^{4,5}, Julien GAILLARD⁶, Olivier HERAULT^{4,5}, Nadia NAFFAKH^{7,8, **}, Ronan LE GOFFIC^{9, **} and Mustapha SI-TAHAR¹

1. Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Inserm U1100, Université de Tours; 2. Service de Réanimation Polyvalente, CHRU de Tours; 3. PST-ASB « Analyses des Systèmes Biologiques », laboratoire de RMN, Université de Tours; 4. CNRS ERL 7001 LNOx « Leukemic niche and redox metabolism », Université de Tours; 5. Service d'Hématologie Biologique, CHRU de Tours; 6. PST Analyse des systèmes biologiques, Département des Microscopies, Université de Tours; 7. Institut Pasteur, Unité de Génétique Moléculaire des Virus à ARN, Département de Virologie - CNRS, UMR3569, Paris; 9. Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité. 9. Virologie et Immunologie Moléculaires, INRA, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas; *, **, Equivalent contribution

Influenza A virus (IAV) is the etiological agent of a highly contagious acute respiratory disease, which causes a considerable socioeconomic burden despite annual vaccination campaigns. Therefore, it is essential to better understand IAV-host cells interaction to help design innovative antiviral therapies. In that regard, recent studies revealed the interplay between metabolic and immune signaling pathways. However, it remains unknown whether IAV alters lung tissues metabolism and what is its potential functional consequence. Using *in vitro* and *in vivo* models as well as human respiratory fluids and in-depth metabolomics analysis, we first found that IAV infection alters the glycolysis and mitochondrial oxidative respiration in lung tissues, leading to the accumulation of several immunometabolites in the bronchoalveolar airspaces. We next focused on one mitochondria-derived metabolite (coined here “MDA”) as its accumulation was found not only in the lungs of IAV-challenged mice but also in the tracheal fluids of IAV-infected patients. Remarkably, we found that MDA exhibits a potent antiviral activity both *in vitro* and *in vivo* as it inhibits H1N1 and H3N2 IAV strains and it strongly decreases IAV-triggered inflammatory response. The underlying inhibiting mechanism involves a disruption of IAV replication cycle as MDA prevents specifically the nuclear export of the viral proteins NP and NS1. Finally, we showed that mice receiving MDA through the intranasal route are more resistant to IAV pneumonia than mock-treated animals. Hence, our study identifies the metabolite MDA as a novel component of the host antiviral arsenal.

Keywords: Influenza virus ; Infection ; Immunometabolism ; Antiviral therapy ; Lung

Rôles de la protéine virale pUL47 dans l'excrétion et la transmission horizontale du Virus de la maladie de Marek-MDV

Aurélien Chuard, Caroline Denesvre, David Padeloup

INRA Infectiologie et Santé Publique, Nouzilly, France

Le MDV est un virus oncogène aviaire très contagieux ayant la poule pour cible majeure. Il provoque le développement, chez les animaux infectés, de lymphomes mortels. Il est retrouvé dans les élevages de poules où son impact reste majeur dans l'économie avicole (1 à 2 milliards de dollars de pertes économiques liées au MDV chaque année).

Une prévention vaccinale contre ce virus est établie depuis les années 1960 et permet de prévenir l'apparition des lymphomes. Cependant, leur utilisation n'empêche pas la dissémination des souches virales dans les élevages, aussi un animal vacciné s'il s'infecte par un virus pathogène réplique et excrète le virus, sans développer la maladie.

Le MDV possède un tropisme particulier pour les follicules plumeux à partir desquels le virus est disséminé de manière exclusive dans le milieu extérieur engendrant ainsi la transmission de l'infection entre animaux.

L'objectif du projet vise à identifier les mécanismes liés à la transmission horizontale spécifique du MDV. L'étude de ces mécanismes est primordiale afin de définir une stratégie de lutte efficace contre la dissémination du MDV. Ainsi l'axe principal d'étude repose sur l'étude de l'implication de la protéine virale pUL47 au niveau de la dissémination virale du MDV. En effet, cette protéine virale a été récemment identifiée comme essentielle pour la transmission horizontale du virus. La régulation du mécanisme de transmission serait liée étroitement à l'épissage alternatif des transcrits viraux impliqués dans la transmission (gC, pUL47).

L'identification de ces mécanismes reliant l'épissage des transcrits viraux à la transmission du virus entre animaux encourageant l'approfondissement des recherches liant les protéines virales identifiées à un rôle déterminant dans la dissémination du MDV.

Le potentiel lié aux résultats obtenus permettrait de définir de nouvelles stratégies de lutte *via* l'optimisation de souches vaccinales ne disséminant pas dans le milieu extérieur permettant ainsi un meilleur contrôle du MDV.

Mots-clés : Marek Disease Virus ; excrétion ; protéines interactions ; vaccins ; épissage ; ARN ;

Impact de la protéine virale IFITM3 sur les glycoprotéines d'enveloppes du VIH-1

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 démontré qu'elle agissait également dans les cellules infectées en s'incorporant dans les virus lors de leur assemblage, diminuant ainsi leur capacité à infecter de nouvelles cellules après leur libération. Cependant, le mécanisme de cette restriction reste inconnu. Dans ce contexte, le but de ma thèse était d'étudier le rôle de la glycoprotéine d'enveloppe (Env) du VIH-1, exprimée à la surface du virus et jouant un rôle majeur dans les premiers stades de l'infection, dans la capacité du virus pour échapper à la restriction par IFITM3.

Nous avons sélectionné neuf clones d'Env dérivés d'isolats primaires du VIH-1 et deux clones d'Env issus de souches adaptées au laboratoire. Des virus pseudotypés qui ne diffèrent que par l'Env exprimée à leur surface ont été produits en présence ou non de la protéine IFITM3. Leur infectivité face aux niveaux d'incorporation d'IFITM3 et/ou d'Env au sein des virions a été évaluée. Enfin, une interaction entre IFITM3 et Env a été recherchée dans les cellules productrices de virus par des expériences d'immunofluorescence (IF) et de co-immunoprécipitation.

Nous avons observé que les virus présentaient des sensibilités variables à l'incorporation d'IFITM3 dans leur membrane, avec une inhibition d'infectivité supérieure à 60% pour les plus sensibles et aucune inhibition, voire une augmentation d'infectivité pour les plus résistants. Cette sensibilité n'était pas dépendante du niveau d'incorporation d'IFITM3 dans les virions. Ces résultats ont confirmé que la sensibilité des virus à IFITM3 dépend de la nature de l'Env exprimée à leur surface. Par des expériences de co-immunoprécipitation, nous avons montré l'existence d'une interaction entre IFITM3 et Env qui diffère selon le niveau de sensibilité de Env à IFITM3. En effet, seuls les Env sensibles sont capables d'interagir avec la gp120, la forme clivée de Env en surface. Ces résultats ont été étayés par des analyses de colocalisation effectuées à partir de marquages IF, montrant qu'IFITM3 et les Env sensibles co-localisent à la membrane cellulaire dans des cellules productrices de virus.

Ensemble, nos résultats suggèrent qu'IFITM3 interagit avec les Env sensibles à la surface de la cellule, les rendant ainsi incapables de fusionner avec une nouvelle cellule cible. L'étude des déterminants moléculaires de Env qui module cette interaction est en cours.

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

Caractérisation des récepteurs canaux ioniques dépendants chez le Pou *Pediculus humanus corporis*

Omar HASHIM^{1,2}, Catheririne DUPUY-PAPIN¹, Françoise Debierre-Grockiego¹ and Isabelle DIMIER-POISSON¹

1. UMR 1282 ISP – "BioMédicaments Anti-Parasitaires" BioMAP
2. University of Gazira, Faculty of Pharmacy, department of Pharmacology.

Pediculus humanus corporis est un ectoparasite humain transmettant respectivement le *Rickettsia prowazeki*, le *Bartonella quintana* et le *Borrelia recurrentis*, responsables respectivement du typhus épidémique, de la fièvre du tronc et de la fièvre récurrente. Malgré les multiples traitements disponibles, l'infestation est répandue dans le monde en raison de l'utilisation incorrecte des pédiculicides et du développement des résistances.

Les canaux ioniques ligands-dépendants jouent un rôle essentiel dans la transmission synaptique du système nerveux central et la jonction neuromusculaire chez les insectes et représentent donc les principales cibles pour le développement de nouvelles molécules à visée pharmacologiques. De nombreux gènes codant pour les récepteurs synaptiques tels que l'acide γ -aminobutyrique (GABA) et le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) ont été identifiés dans les bases de données génomiques de *Pediculus humanus*, suggérant leur existence chez les poux. Afin de les caractériser plus précisément, notre stratégie a consisté d'abord à identifier tous les transcrits de ces récepteurs afin de cloner les transcrits les plus représentatifs puis de tester leurs fonctionnalités en utilisant l'œuf de Xénope.

En utilisant la RACE-PCR, nous avons identifié de nombreux sites de transcription (TSS) ainsi que des extrémités 3' pour la sous-unité GRD du récepteur (GABA), suggérant l'existence de multiples transcrits codant pour ce récepteur. De plus, les analyses des séquences ont révélé des séquences de transcrits différentes de celle présentes dans les banques de données ainsi que des erreurs dans l'annotation du génome de *Pediculus humanus corporis*. La même technique a été utilisée pour identifier les extrémités des transcrits des sous-unités nAChR, mais pour le moment, nous n'avons pas été en mesure de cloner l'extrémité 5' de ces transcrits, en raison d'amplifications non spécifiques. Seule une extrémité 3' unique pour les sous-unités nAChR $\alpha 1$ et $\alpha 4$ ont été clonées jusqu'à présent, tandis que pour les sous-unités nAChR $\alpha 5$ et $\alpha 7$ ni l'extrémité 3' ni l'extrémité 5' ont été obtenues suggérant une expression faible ou inexistante de ces gènes.

Globalement, l'ensemble de ces travaux à terme, permettront d'élaborer de nouvelles stratégies pour rendre les pédiculicides plus efficaces et moins nocifs pour l'homme et l'environnement.

Mots-clés: caractérisation moléculaire, *Pediculus humanus*, récepteurs GABA, récepteurs nACh.

Etude du mécanisme d'endocytose du virus de l'Hépatite B

Charline Herrscher, Florentin Pastor, Emmanuelle Blanchard, Christophe Hourieux, Hugues de Rochigny, Florian Seigneuret, Julien Gaillard, Philippe Roingard

INSERM U1259, Faculté de Médecine, Tours

On estime à plus de 250 millions de personnes vivant avec une infection par le virus de l'hépatite B (VHB) à travers le monde. La forme chronique de la maladie expose les patients à un risque important de décès par cirrhose et cancer du foie. Bien qu'un vaccin soit disponible, il n'est efficace que dans 95% des cas dans la prévention du développement d'une hépatite chronique. Il existe néanmoins des traitements pour lutter contre les formes d'hépatites chroniques, des antiviraux oraux qui ralentissent la progression de la cirrhose, réduisent l'incidence des cancers du foie et améliorent la survie à long terme. Cependant ils ne permettent pas une rémission totale et certains patients ne répondent pas aux traitements. Il est donc primordial de trouver de **nouvelles cibles** pour l'élaboration de nouvelles stratégies antivirales.

L'**endocytose**, un processus cellulaire majeur, est un mécanisme efficace utilisé par de nombreux virus pour franchir la barrière physique de la membrane plasmique afin d'amorcer le cycle infectieux. Parmi les voies d'endocytose les plus étudiées nous pouvons citer l'endocytose dépendante de la clathrine, l'endocytose dépendante des cavéoles, la macropinocytose et des voies d'endocytose indépendantes de la clathrine et des cavéoles. L'**entrée virale**, constituant la toute première étape du cycle infectieux, représente donc une cible attractive pour la recherche de nouvelles stratégies antivirales. Les premières étapes du cycle infectieux du VHB demeurent encore peu connues du fait de la difficulté à mettre en place un système de culture *in vitro* efficace.

Nous avons donc mis en place localement un système de culture permettant d'étudier l'entrée virale du VHB. Nous avons utilisé une lignée cellulaire hépatique surexprimant le récepteur NTCP (découvert il y a 7 ans) et nous avons étudiés, par des expériences d'inhibition (drogues et ARN interférence), le rôle des voies d'endocytose mentionnées auparavant pour l'internalisation du VHB.

Nos premiers résultats supportent notre hypothèse selon laquelle le VHB serait internalisé dans les cellules par une voie d'endocytose dépendante de la clathrine. Ces résultats contribuent à décrypter les mécanismes impliqués dans l'entrée du VHB et à mettre en lumière une étape cruciale pour le développement de nouvelles stratégies antivirales..

Srn024, un petit ARN nécessaire à la croissance bactérienne chez le pathogène *Streptococcus agalactiae*

Nancy Jabbour, Aurélia Hiron, Sophie Poussing et Marie-Frédérique Lartigue

Equipe "Bactéries et risque materno-foetal", UMR1282 Université-INRA, Tours

Streptococcus agalactiae est la cause majeure des infections néonatales humaines, mais aussi un pathogène émergent chez les adultes immunodéprimés. Sa capacité à coloniser différents hôtes montre son aptitude à s'adapter aux changements environnementaux, qui serait en partie due aux ARN régulateurs, très peu étudiés chez *S. agalactiae*. L'ARN potentiellement régulateur Srn024 a été identifié par RNAseq mais sa fonction reste inconnue [1]. Par ailleurs, il serait régulé par le système à deux composants CiaRH, qui semble impliqué dans différents processus tels que la formation de biofilm et l'antibiorésistance [2]. L'objectif ici est d'identifier la fonction de Srn024 afin de mieux comprendre les réseaux de régulation bactériens sous le contrôle des ARN.

La prévalence du gène *srn024*, identifié dans la souche *S. agalactiae* NEM316, première souche séquencée, a été étudiée dans 374 souches représentatives de la diversité génétique de l'espèce en utilisant des techniques de biologie moléculaire et des analyses *in silico* de génomes séquencés. Puis, un mutant de délétion de *srn024* a été construit dans la souche NEM316. Différents phénotypes liés à CiaRH ont été recherchés dans la souche mutante : la formation de biofilm, la sensibilité aux antibiotiques et la croissance bactérienne.

Srn024 est présent chez toutes les souches quelle que soit leur origine anatomique ou leur position phylogénétique. Le rôle biologique de Srn024 a été étudié en construisant un mutant NEM316 Δ *srn024*. Les concentrations minimales inhibitrices des différents antibiotiques testés sont identiques pour la souche sauvage et NEM316 Δ *srn024*. La formation du biofilm semble également similaire pour les deux souches. En revanche, un retard de croissance de la souche mutante par rapport à la souche sauvage a été mis en évidence en milieu chimiquement défini (MCD) alors que ces deux souches ont une croissance identique en milieu Todd-Hewitt. Ces résultats semblent indiquer que l'ARN régulateur Srn024 permettrait à la bactérie de s'adapter en MCD. Des expériences de complémentation du phénotype de la souche mutante sont indispensables pour confirmer ces résultats. Des analyses plus poussées seront nécessaires pour comprendre le mécanisme d'adaptation de ce mutant à ce milieu.

Mots-clés : ARN régulateurs - *Streptococcus agalactiae* - croissance bactérienne.

Rôle de la réponse SOS dans le transfert conjugatif et le maintien dans le génome de *Salmonella* Genomic Island 1

Pons Marine, Cloeckart Axel, Doublet Benoît

INRA, Université François Rabelais Tours

Actuellement, un des problèmes majeurs de santé publique est l'émergence de souches bactériennes pathogènes multirésistantes aux antibiotiques. Les transferts horizontaux de gènes de résistances aux antibiotiques sont largement favorisés lorsqu'ils sont présents sur des éléments génétiques mobiles.

Salmonella Genomic Island 1 (SGI1) est un élément intégratif mobilisable multirésistant aux antibiotiques identifié chez *Salmonella* mais également présent chez plusieurs autres entérobactéries. Pour son transfert, SGI1 est spécifiquement mobilisé en *trans* par les plasmides conjugatif de la famille IncA/C. Récemment, un phénomène d'incompatibilité a été démontré entre SGI1 et les plasmides IncA/C qui serait contrebalancé par un système Toxine-Antitoxine (TA) encodé par SGI1 (*sgiAT*). En présence de plasmide IncA/C, ce système TA joue un rôle important sur la maintenance de SGI1 dans la population bactérienne.

Le but de mon projet de thèse est de déchiffrer les mécanismes de mobilisation conjugative et de maintenance dans le génome de SGI1. Une analyse de séquence a révélé la présence de sites de fixation de la protéine LexA sur SGI1, particulièrement dans les promoteurs putatifs de *sgiAT* and *flhDC*_{SGI1} (activateur transcriptionnel de SGI1). LexA est le régulateur transcriptionnel de la réponse SOS bactérienne. L'hypothèse de ma thèse est que l'entrée des plasmides IncA/C par conjugaison dans des bactéries portant SGI1 activerait transitoirement la réponse SOS et par extension l'expression de *sgiAT* and *flhDC*_{SGI1}. Cette cascade de régulation entrainerait la mobilisation conjugative de SGI1 et favoriserait sa maintenance dans le génome des bactéries.

Au cours de ma première année de thèse, j'ai confirmé dans différentes conditions et différents fonds génétiques (*E. coli* WT, SOS^{ON}, SOS^{OFF}, *Salmonella*, induction mitomycine,...) que l'expression de *sgiAT* and *flhDC*_{SGI1} sont en partie sous contrôle de LexA. De futurs travaux sont en cours pour confirmer ces résultats et montrer que l'entrée dans les cellules des plasmides IncA/C en simple brin active la réponse SOS.

SGI1, réponse SOS, IncA/C, Toxine/Antitoxine, Antibiorésistance

EtROP2, une ROP kinase localisée au sein du compartiment des rhoptries et exprimée durant les stades précoces du cycle parasitaire d'*Eimeria tenella*

Adeline Ribeiro E Silva, Alix Sausset, Yves Le Vern, Fabrice Laurent, Sonia Lacroix-Lamandé, Anne Silvestre

UMR 1282 - Infectiologie et Santé Publique – Apicomplexes et Immunité des Muqueuses AIM - INRA – Centre Val de Loire

Les coccidies sont des parasites intracellulaires obligatoirement responsables de maladies humaines et vétérinaires. *Eimeria tenella* est un protozoaire apicomplexe responsable de coccidiose aviaire. Cette pathologie est à l'origine de pertes économiques majeures au sein de l'industrie aviaire à travers le monde.

L'infection par *E. tenella* se caractérise par un envahissement des cellules épithéliales du tube digestif, provoquant ainsi des lésions intestinales pouvant mener au décès de l'animal. Jusqu'à présent, les méthodes de prophylaxie telle que la vaccination et l'utilisation de molécules chimiques, permettaient de contrôler les coccidioses. Pourtant, l'apparition de résistances vis-à-vis des molécules anticoccidiennes ainsi que le coût élevé des vaccins, rendent nécessaire l'amélioration des moyens de lutte contre les coccidioses.

Durant la phase d'invasion, le parasite libère le contenu de ses rhoptries, organelles de sécrétion spécifiques des Apicomplexes. Le répertoire protéique des rhoptries exprimé chez *Toxoplasma gondii* inclut des kinases, reconnues comme étant des facteurs de virulence clés. Ces kinases sont impliquées dans le dialogue moléculaire entre le parasite et la cellule hôte ce qui leur permet de moduler les voies et fonctions cellulaires favorisant ainsi le développement de *T. gondii*. Le kinome d'*E. tenella* est prédit comme contenant 28 ROP kinases putatives. Parmi elles, 2 kinases prédites comme étant actives ont été identifiées au sein du protéome des rhoptries du stade sporozoïte. La première kinase, EtROP1, est décrite comme étant une kinase active capable de phosphoryler la p53 inhibant ainsi l'apoptose des cellules parasitées et favorisant le développement du parasite. La seconde kinase EtROP2, est également une kinase active dont les fonctions doivent être caractérisées. Ce travail montre les premiers résultats de la caractérisation d'EtROP2. Il met en évidence sa localisation au pôle apical du parasite via des techniques de microscopie, ainsi que son expression précoce au cours du cycle parasitaire.

L'étude de cette seconde kinase, EtROP2, pourrait révéler qu'il s'agit d'un bon candidat dans la course à l'amélioration des moyens de contrôle des coccidioses.

Mots clés : *Eimeria tenella*, kinase, rhoptrie, virulence.

Étude de l'interaction entre le virus de l'Hépatite E et les acteurs du métabolisme des lipides

Yannick Treguier, Anne Bull-Maurer, Philippe Roingeard, Jean-Christophe Meunier

INSERM U1259, Université et CHRU de Tours, France

Le virus de l'hépatite E (VHE) est la première cause mondiale d'hépatite par transmission entérique avec plus de vingt millions d'infections par an (OMS). Il est majoritairement responsable d'hépatites auto-résolutives chez les personnes immunocompétentes, mais il peut provoquer des hépatites fulminantes chez la femme enceinte ou induire une hépatite chronique chez les patients immunodéprimés. Le VHE est endémique dans la majorité des pays en voie de développement, et depuis plusieurs années, il est aussi considéré comme émergent dans les pays développés. Ce virus appartient à la famille des *Hepeviridae* et il est considéré depuis peu comme étant un virus quasi-enveloppé. Son génome ARN simple brin code trois protéines dont sa protéine de capsid : ORF2.

Dans notre étude, nous voulons investiguer le rôle des acteurs du métabolisme des lipides dans le cycle viral du VHE. En reprenant une stratégie ayant déjà été appliquée par notre équipe lors de l'étude du virus de l'hépatite C (VHC), nous avons déterminé la taille des particules VHE présentes dans des sérums de patients et dans des surnageants de système de culture. Ainsi, nous avons mis en évidence une hétérogénéité dans la taille de ces particules, ce qui, dans le cas du VHC, était lié à une lipidation différentielle de celles-ci. Il a aussi été montré par immunocapture (IC) que les particules VHE pouvaient être capturées en utilisant des Anticorps (Ac) anti-virus, mais aussi avec des Ac anti-ApoE, qui est une protéine majeure du métabolisme des lipides. Pour confirmer ces données, une précipitation avec un Ac anti-ApoE a été réalisée sur des sérums de patients ou des surnageants de système de culture, et le génome viral a été détecté positivement dans les précipitas. Afin d'étudier cette interaction entre le virus et l'ApoE, des immunoprécipitations (IP) anti-ApoE ont été réalisées à partir de lysats de cellules exprimant l'ORF2 seule ou de cellules infectées par le VHE. Des co-IPs de l'ORF2 ont été mises en évidence dans ces conditions, indiquant donc qu'elle serait la protéine virale impliquée dans cette interaction. Nous avons renforcé cette conclusion en démontrant une colocalisation de ces deux acteurs par microscopie confocale.

Ensemble, ces données suggèrent que le VHE, à l'instar du VHC, est dépendant du métabolisme des lipides pour son cycle viral. Nous poursuivons notre investigation en caractérisant plus finement l'association ApoE-ORF2 mais aussi en étudiant le rôle de l'ApoE dans l'entrée virale.

Mots clés : Hépatite E, cycle viral, métabolisme des Lipides, Apolipoprotéine E, ORF2,

Effets d'une activité physique contrôlée sur la condition physique, la composition corporelle et la qualité de vie de femmes obèses opérées d'une chirurgie bariatrique

Marine ASSELIN¹, Katia COLLOMP¹, Elise MONGEOIS², Virgile AMIOT², Nancy VIBAREL-REBOT¹

¹Laboratoire CIAMS Université d'Orléans et Paris-Sud, UFR Collegium Sciences et Techniques, Pôle STAPS

²Centre Hospitalier Régional d'Orléans

CONTEXTE. L'obésité morbide, dont la prévalence est en augmentation constante, justifie aujourd'hui l'engouement pour les traitements chirurgicaux. La chirurgie bariatrique entraîne en effet une perte de poids importante, réduit le risque de mortalité et les comorbidités associées à l'obésité et améliore la capacité physique fonctionnelle. Puisque ces bénéfices sont liés à une diminution des apports énergétiques, nous souhaitons les optimiser en intégrant une pratique d'activité physique (AP), qui augmente la dépense énergétique.

OBJECTIF. Evaluer les effets d'une AP régulière et contrôlée sur la condition physique, la composition corporelle et la qualité de vie de femmes obèses opérées d'une chirurgie bariatrique. Il s'agira d'étudier les effets chroniques, mais aussi les effets à l'exercice aigu, afin de mieux comprendre les adaptations à l'exercice qui pourraient se produire après la chirurgie bariatrique et de comparer la différence éventuelle de réponses physiologiques à l'exercice aigu et chronique en fonction du type de chirurgie.

METHODOLOGIE. 48 femmes seront réparties en 2 groupes : un groupe AP Adaptée (GAPA : 3 séances d'1h30/sem. pendant 12 semaines) et un groupe contrôle n'effectuant aucune AP contrôlée (GC). Nous distinguerons les patientes opérées d'un bypass ou d'une sleeve. Les sujets seront évaluées au cours de 3 visites postopératoire (V1 : 6±2sem.; V2 : 18±2sem.; V3 : 30±2sem.) de façon à mesurer le métabolisme de base (calorimétrie de repos), la composition corporelle (impédancemétrie), la condition physique (2 épreuves d'effort : une maximale et une sous-maximale au cours de laquelle nous doserons les hormones et métabolites impliqués dans le métabolisme à l'exercice ; TM6 et 2 tests de force maximale du quadriceps et de préhension), la qualité de vie (EQVOD, ISP, Croyances et Barrières à l'exercice physique) et la pratique physique quotidienne (IPAQ et accéléromètre).

RESULTATS. Nous nous attendons à ce que les marqueurs de la condition physique soient meilleurs dans le GAPA vs GC, avec éventuellement une perte pondérale plus marquée, une MM mieux conservée, une qualité de vie supérieure ainsi qu'une meilleure adaptation hormonale à l'exercice.

CONCLUSION. L'originalité de notre étude permettra une meilleure connaissance des réponses physiologiques à l'exercice aigu et chronique suite à une chirurgie bariatrique et ce, en fonction du type de chirurgie.

Mots-clés : chirurgie bariatrique, obésité morbide, activité physique adaptée

Etude du stress oxydant dans les conditions réelles d'oxygénation de la peau : la physioxie

Nadira CHETTOUH-HAMMAS, Giovanni BUSCO, Fabienne FASANI, Catherine GRIILON

Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301, rue Charles Sadron, 45071 Orléans Cedex 2, France

Dans le cadre du développement des méthodes alternatives pour remplacer les tests sur les animaux, il est important de mettre au point des modèles de culture in-vitro de la peau se rapprochant le plus de la réalité en prenant en compte son microenvironnement. Un paramètre très important du tissu cutané est la pression partielle en oxygène, un taux qui varie de 1.5 à 7% selon la zone de la peau, condition appelée la physioxie (1,2). Cependant, les tests in-vitro sur la peau sont effectués généralement au taux d'oxygène atmosphérique (~18% dans les incubateurs), la normoxie, une condition complètement différente du taux physiologique dans la peau. L'oxygène est le précurseur des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont impliquées dans le stress oxydant décrit comme la principale cause du photovieillissement. Le stress oxydant résulte d'une production accrue de ROS (rayonnement UV, polluants, ...) qui dépasse les capacités antioxydantes naturelles de la peau. Mon projet de thèse consiste à caractériser le stress oxydant en condition de physioxie. Ce nouveau modèle nous permettra d'étudier des nouvelles cibles, qui pourront contrebalancer les effets néfastes du stress oxydant dans le processus de photovieillissement. Pour mesurer le stress oxydant, nous avons quantifié le niveau des ROS dans les kératinocytes selon le taux d'oxygène. Les capacités antioxydantes de ces cellules en physioxie et normoxie ont été comparées par le dosage des activités des enzymes impliquées (SODs, Catalase et GPX4), la quantification de leur expression protéique et de leur expression génique. Nos résultats montrent une meilleure résistance des cellules cultivées en physioxie contre un stress oxydant (H₂O₂). Nous avons démontré une surexpression de la catalase qui pourrait être responsable cette résistance. L'activité et l'expression protéique des autres enzymes ne semblent pas affectées par le taux d'oxygène. Cependant, leurs transcrits sont surexprimés en normoxie ce qui suggère une régulation négative de l'expression de ces protéines en physioxie. Des études sont en cours pour comprendre la modulation de l'expression de ces enzymes selon le taux d'oxygénation. C'est la première fois qu'une étude met en relation le taux d'oxygène et le niveau du stress oxydant dans les cellules de la peau. Ces résultats montrent l'importance de cultiver les kératinocytes en physioxie pour permettre une meilleure compréhension des mécanismes physiologique de la peau.

1-C Grillon, A Matejuk, M Nadim, N Lamerant-Fayel and C Kieda. News on microenvironmental physioxia to revisit skin cell targeting approaches. 2012, *Experimental Dermatology*, 21, 723-29

2-Mas-Bargues C., Sanz-Ros J., Román-Domínguez A., Inglés M., Gimeno-Mallench L., El Alami M., Viña-Almunia J., Gambini J., Viña J., Borrás C. Relevance of Oxygen Concentration in Stem Cell Culture for Regenerative Medicine. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20:1195.

Ce peuplier, quelle bonne pâte (à papier)

Clément Cuello¹, Françoise Laurans^{1,3}, Véronique Lainé-Prade^{1,3}, Camille Grand-Perret¹, Marie-Claude Lesage-Descauses¹, Vincent Segura¹, Romaric Monteil¹, Gilles Pilate¹, Annabelle Déjardin¹

¹UMR Biologie intégrée pour la valorisation de la diversité des arbres et de la forêt (UMR0588 BioForA), INRA, ONF, Orléans, France

³Plateforme régionale Génobois, INRA, Orléans, France

Le peuplier est une essence d'importance économique pour la filière forestière française. La possibilité de produire des peupliers transgéniques en fait le modèle en biologie fonctionnelle des arbres feuillus. Le bois est composé de trois types cellulaires majeurs : fibres, vaisseaux et rayons. Les fibres, type cellulaire majoritaire, sont les cellules qui conditionnent le plus les valorisations possibles de la biomasse bois. Cette valorisation est intimement liée aux parois cellulaires et à leurs propriétés physiques et chimiques. La valorisation du bois en pâte à papier et, plus récemment, en bioéthanol est limitée par la présence de lignines, pourtant essentielles à la rigidité de la paroi et au port de l'arbre. Les lignines de peuplier sont composées principalement de sous-unités G et S. La cinnamyl alcool dehydrogenase (CAD) et la cinnamoyl-CoA reductase (CCR) sont deux gènes majeurs dans la synthèse des lignines. La Ferulate 5-hydroxylase (F5H) permet le passage de précurseurs d'unités G aux précurseurs d'unités S. Ces trois gènes ont été ciblés par transgénèse pour produire une lignée exceptionnelle, sous-exprimant la CAD et la CCR et sur-exprimant la F5H. Afin de caractériser les propriétés chimiques du bois de cette lignée, des spectres en moyen infrarouge ont été acquis. Une analyse sur poudre de bois nous a permis de mettre en évidence une augmentation de la cellulose cristalline, des hémicelluloses et des pectines, associée à une diminution des lignines, de leur condensation et une augmentation du ratio S/G par rapport à la lignée témoin. Une analyse en imagerie infrarouge nous a permis d'étudier spécifiquement les parois des fibres. Ici, seul l'impact sur les lignines a pu être observé. Malgré la diminution de la quantité de lignines dans ses fibres, cette lignée ne présente pas de différence de croissance par rapport à la lignée témoin. Cela pourrait s'expliquer par une adaptation physiologique : la production de bois de tension en spirale. Ainsi, la combinaison de ces différentes approches, associée aux savoirs existants, nous a permis de mettre en évidence (i) que les transformations impactent majoritairement les parois des fibres de bois et (ii) que celles-ci modifient principalement la teneur en lignines et le ratio S/G. Ces résultats suggèrent que ce peuplier, avec de telles caractéristiques, devrait présenter une meilleure valorisation en pâte à papier et bioéthanol.

Remerciements : UE GBFor - INRA Val de Loire (Patrick Poursat, Anita Rinfray) ; Financements : Région Centre Val de Loire (APR-IR 2016-00108472 OPeNSPeNU ; APR-IA 2017-00119918 LICA), PIA Equipex 10 pH/SC-11/2446 Xyloforest

Mots-clés : peuplier génétiquement modifié, bois, (micro)spectroscopie, paroi végétale

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

Skander Abboud,¹ Véronique Piller,¹ Sébastien Papot,² Agnès F. Delmas,¹ Vincent Aucagne.¹

¹: CBM, UPR4301 CNRS, Orléans ; ²: 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 cleavage¹ (see figure). I will present the main results I obtained during my first year, including the optimization of the synthesis of peptide “crypto-thioesters”,² 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.

Chromophoric Nanobeads for Photoacoustic and Near-infrared Luminescence Imaging

Kovalenko Anton¹, Eliseeva Svetlana V.¹, Petoud Stéphane¹

¹Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR4301, Rue Charles Sadron, 45071 Orléans, France

Optical imaging modalities such as luminescence epifluorescence and confocal micro- and macroscopy have become increasingly important for the biological and biomedical fields (research and diagnostic). These luminescence technologies allow the acquisition of high resolution images down to hundreds of nanometers. One of the current limitations for *in vivo* imaging with these techniques is the penetration depth of the emitted light and the detection signal since both can be absorbed and scattered by biological tissues. Photoacoustic imaging techniques, where ultrasound is used as detection signal, can overcome the penetration depth limitation up to several centimetres. As of today, the number of contrast agents suitable for photoacoustic imaging, especially the ones that are compatible with luminescence imaging techniques, remains scarce limiting the scope of use of this technique.

The goal of our project is to design, synthesize, characterize and test of probes suitable for both photoacoustic and luminescence imaging modalities. Polystyrene nanobeads are water-stable systems that can be modified and/or functionalized on their surfaces. In this work, we investigated the encapsulation of chromophores *via* a swelling procedure inside 100 nm polystyrene beads. Tested chromophores are four different cyanine dyes with absorption in the near-infrared range. Through this procedure, water suspensions of polystyrene beads were prepared with different amounts of incorporated dyes. The incorporation efficiencies of the chromophores inside the beads were estimated using an extraction procedure and it was found out that they do not depend on the initial amount of the chromophoric dyes. The luminescence and photoacoustic properties of the water suspension of the coloured beads were investigated and the optimal amount of incorporated cyanine dyes was identified. It was shown that the obtained polystyrene beads are promising for both imaging modalities.

Mots-clés : near-infrared, luminescence, photoacoustic, imaging, beads, cyanine dyes, microscopy

Synthèse et fonctionnalisation de nouveaux hétérocycles fusionnés à motif quinuclidine

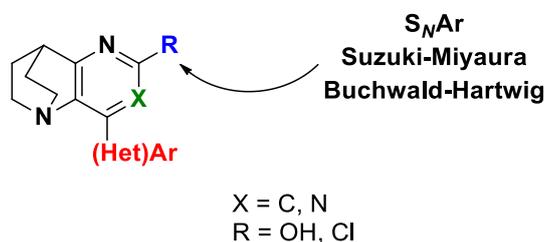
Mazarine LAURENT, Sylvain ROUTIER, Frédéric BURON

Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans, UMR CNRS 7311, rue de Chartres, BP 6759, 45067 Orléans Cedex 2

Les dérivés contenant un motif quinuclidine sont des molécules de choix en chimie médicinale. En effet, cet hétérocycle est présent dans de nombreuses molécules naturelles comme la quinine, et présentent de nombreuses propriétés biologiques variées telles que antipaludiques, antipyrétique ou analgésique. Son fort potentiel et ses propriétés physico-chimiques a amené les chimistes à développer des molécules de synthèse ciblant notamment des récepteurs du système nerveux central tel que le récepteur nicotinique $\alpha 7$ de l'acétylcholine.^a

Malgré son potentiel, peu de structures polycycliques fusionnés contenant le motif quinuclidine sont décrites dans la littérature.^b Il y a donc un grand intérêt à développer de nouvelles structures originales et les méthodologies de synthèse associées pour accroître la diversité moléculaire de ces familles et étudier leurs potentiels biologiques. Pour lever ce verrou, nous avons développé la synthèse de plateforme versatile contenant la quinuclidine fusionnée avec un hétérocycle polyazoté de type pyridine ou pyrimidine. Ces structures ont été pensées pour pouvoir aisément ancrer régiosélectivement divers groupements fonctionnels pour réaliser les futurs travaux de chimie médicinale et générer des molécules biologiques actives puissantes et sélectives.

Diverses méthodologies de fonctionnalisation de création de liaison C-C, C-O, C-S ou C-N ont été étudiées *via* l'emploi de couplages pallado-catalysés ou de S_NAr en utilisant les techniques modernes de synthèse. Dans ce contexte, nous avons initié la transposition de ces méthodes de fonctionnalisation en chimie en flux continu, en respectant les concepts de la chimie verte.



Mots-Clés : Quinuclidine, Couplage pallado-catalysé, Chimie en flux continu

Références :

- a- i) S. Routier, *et al.* ; FR 2974365-A1 ; ii) W.H. Bunnelle, M. M.J. Dart, M.R. Schrimpf, *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4*, 299–334 ; iii) G. Mullen, J. Napier, M. Balestra, T. DeCory, G. Hale, J. Macor, R. Mack, J. Loch, E. Wu, A. Kover, *et al.*, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4045–4050.
 b- i) W. S. Hamama, O. M. A. El-Magid, H. H. Zoorob, *Z. Für Naturforschung B* **2006**, *61*, 93-100; ii) R. Singh *et al.* ; WO2010/005879A1.

Etude des profils pharmacologiques des nAChRs de la tique *Ixodes ricinus* par une technique de microtransplantation de protéines transmembranaires

Anaïs LE MAUFF
LBLGC USC INRA 1328

La tique *Ixodes ricinus* est connue pour être une espèce vectrice de nombreux microorganismes. Largement répartie en Europe et notamment en France, elle est capable de transmettre des pathogènes à l'Homme après une morsure. La borréliose de Lyme, principalement transmise par les tiques du genre *Ixodes*, est la plus commune des maladies vectorielles. Cette maladie est un problème de santé publique et elle est également reconnue comme maladie professionnelle pour les personnes travaillant sur le terrain (militaires, gardes forestiers, ...). Aujourd'hui, il n'existe aucune approche vaccinale efficace contre les maladies transmises par les tiques. La lutte anti-vectorielle constitue la méthode préventive la plus efficace pour limiter les morsures des tiques et lutter contre les maladies transmises par les tiques. Dans ce contexte, il est fondamental de développer de nouvelles stratégies afin d'identifier des acaricides plus efficaces. Dans le cadre de ce projet, nous avons développé une technique de microtransplantation de protéines transmembranaires de synganglion de la tique *Ixodes ricinus*, dans l'objectif d'étudier les profils pharmacologiques des récepteurs à l'acétylcholine de type nicotinique (nAChRs).

Les nAChRs sont la cible de nouvelles molécules antiparasitaires. Ils sont impliqués dans plusieurs phénomènes de résistances chez les insectes et les acariens. En utilisant la technique de microtransplantation, nous avons obtenu des nAChRs fonctionnels chez la tique *Ixodes ricinus*. Les réponses des nAChRs à des agonistes sont obtenues en inhibant les récepteurs à l'acétylcholine de type muscarinique, avec l'atropine. De même, l'amplitude des courants nicotiniques est augmentée en présence de PNU-120596, un modulateur allostérique positif des récepteurs nicotiniques. Enfin, nous avons également démontré que les nAChRs présents chez la tique étaient sensibles aux insecticides néonicotinoïdes comme l'imidaclopride, la clothianidine, le thiamethoxam et l'acétamipride. Ces données montrent l'intérêt de la technique de microtransplantation pour l'étude des récepteurs fonctionnels de la tique *Ixodes ricinus*.

Mots-clés : nAChRs, *Ixodes ricinus*, microtransplantation membranaire, électrophysiologie, néonicotinoïdes.

Metal-based Probes for the Visualization of Amylin, an Amyloid Peptide Linked to Diabetes

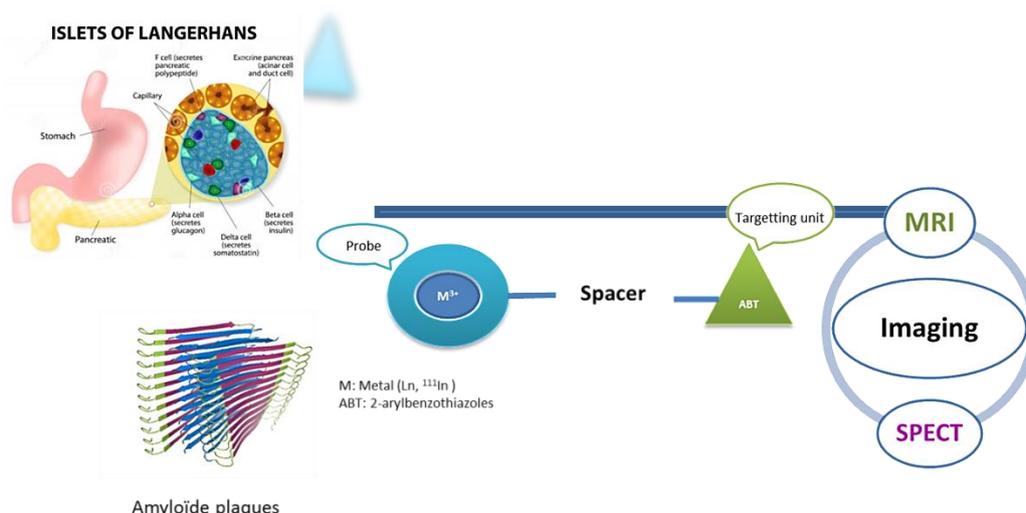
Saida Majdoub, Jean-François Morfin, Célia Bonnet and Eva Jakab Tóth
Centre de Biophysique Moléculaire, UPR CNRS 4301, 45071, Orléans, France
saïda.majdoub@cnrs-orleans.fr

Diabetes is a major cause of death in the world. The number of affected people has reached 422 million worldwide and the insulin-resistant type (Type 2) represents 90% of them.

During the last decade, several positron emission tomography (PET) probes have been developed for the detection of amyloid peptides, mostly $A\beta$ aggregates ($A\beta_{1-40}$, $A\beta_{1-42}$), in the context of Alzheimer's disease. Only few probes have been developed for MRI detection of amyloid plaques,^{(a)(b)(c)} or for the detection of other types of amyloid peptides.

In this work, we report new metal-based imaging probes for the visualization of amylin, an amyloid peptide related to diabetes. The probes contain one or two amyloid-targeting units (derivatives of PiB^(d) = Pittsburgh compound B), a macrocyclic metal chelate as imaging reporter and a spacer between the two that modulates the lipophilicity of the molecule.

The affinities of our probes to amylin as well as to $A\beta$ were characterized by surface plasmon resonance measurements. The influence of the metal complexes on peptide aggregation was studied by circular dichroism and the critical micellar concentrations for these amphiphilic complexes were determined by relaxometry and/or UV-Visible spectrophotometry. We try to gain insight into the relationship between chemical structure and these parameters.



(a) S. Lacerda, J.-F. Morfin, C. F.G.C. Geraldes and É. Tóth, 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. Geraldes, É. Tóth, ACS Med. Chem. Lett. 2013, 4, 436–440.

(c) A. F. Martins, J.-F. Morfin, C. F.G.C. Geraldes and É. Tóth J. Biol. Inorg. Chem. 2014, 19, 281-295.

(d) William E. Klunk et al., Annals of Neurology 55, no 3, 2004.

Imidazo[2,1-*b*][1,3,4]thiadiazoles : conception et synthèse de nouveaux inhibiteurs doubles des kinases DYRK1A/CLK1

Clémentine Pescheteau⁽¹⁾, Matthieu Place⁽¹⁾, Chloé Copin⁽¹⁾, Stéphane Bourg⁽¹⁾, Pascal Bonnet⁽¹⁾,
Sandrine Ruchaud⁽²⁾, Frédéric Buron⁽¹⁾, Sylvain Routier⁽¹⁾

(1) Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans, UMR CNRS 7311, Rue de Chartres, BP 6759, 45067 Orléans Cedex 2, France.

(2) CNRS USR3151, Station Biologique, place G. Teissier, CS90074, 29688 ROSCOFF Cedex, France.

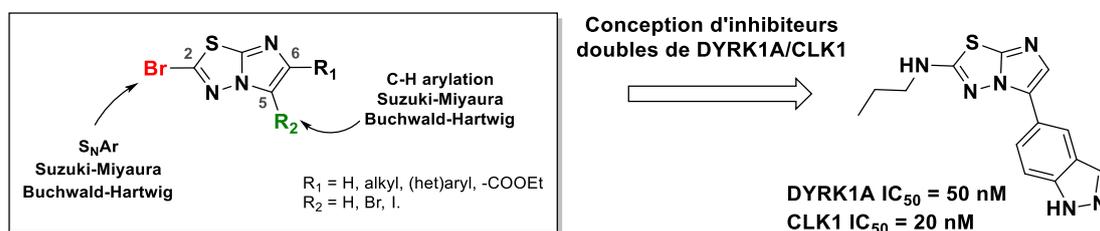
L'intérêt des imidazo[2,1-*b*][1,3,4]thiadiazoles^a pour leur utilisation en thérapeutique en font des structures de choix en chimie organique. Ces dérivés ont montré leur efficacité en oncologie^b, infectiologie^c ou sur les maladies neurodégénératives.^d

Cependant, les outils de synthèses afin d'accéder à des imidazothiadiazoles polyfonctionnalisés sont très limités, avec peu d'exemples décrits.^e Afin d'accroître la diversité moléculaire de ces dérivés, il existe un grand intérêt à développer de nouvelles méthodologies de synthèse efficaces.

Ainsi, nous avons créé de nouveau chemin d'accès pour moduler régiosélectivement les positions C-2, C-5 et C-6 de cette structure.^f Dans le but de créer des liaisons C-C, C-N, C-O ou C-S, nous avons utilisé diverses réactions : S_NAr, C-H arylation, couplages croisés catalysés au palladium. Nous avons examiné la réactivité de chaque position et montré l'influence des groupements précédemment introduits.

Cette nouvelle méthodologie de synthèse en place, nous avons alors produit de nouveaux inhibiteurs doubles de kinases. En effet, les structures fonctionnalisées peuvent être des inhibiteurs puissants des kinases DYRK1A et CLK1, impliquées dans les processus neurodégénératifs, notamment observés dans la maladie d'Alzheimer.

Cette méthodologie, la synthèse des composés et les résultats des tests biologiques seront présentés durant cette communication.



Références :

- (a) i) Terzioglu, N *et al.*; WO2010/12345A1; ii) Khazi, I. A. M. *et al.*; *Tetrahedron*, **2011**, 67, 3289-3316.
(b) Romagnoli, R. *et al.*; *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 101, 205-217. (c) Alwan, W. S. *et al.*; *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 95, 514-525. (d) Patel H. M. *et al.*; *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 93, 599-613. (e) i) Chiang, H. A. *et al.*; *Org. Lett.* **2007**, 9, 1449-1451. ii) Capriati, V. *et al.*; *Eur J. Org. Chem.* **2002**, 3, 478-484. iii) Kim, S. H. *et al.*; *Org. Lett.* **2010**, 12, 1868-1871. (f) i) Copin, C. *et al.*; *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 3079-3083. ii) Copin, C. *et al.*; *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 6932-694 iii) Copin, C. *et al.*; *Synlett*, **2016**, 27, 1091-1095. iv) Copin, C. *et al.*; *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 1958-1962.

Exploring Rho helicase activity for the purpose of synthetic regulation

Isabelle Simon^{1,2}, Annie Schwartz¹, Mildred Delaleau¹, Marc Boudvillain^{1,2}

¹ Centre de biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301, rue Charles Sadron, Orléans, France

² Ecole doctorale Santé, Sciences Biologique et Chimie du Vivant, Université d'Orléans.

The growing field of synthetic biology aims to engineer new biological systems or functions applicable to many fields (biotechnology, medicine, industry, etc.). A major challenge in the field is to finely and tightly control gene expression in cells (for bioproduction, therapy, etc.) or cell-free systems (for biosensing). Switchable RNA sequences able to control transcription or translation upon binding to a cognate ligand have been engineered to this end. While these synthetic systems –called riboswitches– are promising, a low dynamic range limits their performance and applicability. To tackle this problem, we aim to design composite systems where riboswitches operating by distinct mechanisms are combined to control gene expression synergistically. Our first step towards this goal is to develop synthetic riboswitches able to govern the biological activity of the bacterial Rho helicase. In nature, this bacterial ring-shaped, ATP-dependent motor triggers transcription termination in a manner that is often coupled to other regulatory signals. To date, Rho activity has never been exploited for synthetic regulation purposes.

Using rationale sequence engineering, we have created a first-generation riboswitch construct by mixing the scaffold of a well-known theophylline-binding aptamer with that of a natural Rho-dependent terminator. Using biochemical assays to monitor Rho helicase activity *in vitro*, we show that this chimera construct indeed governs Rho in a theophylline-dependent manner, thereby validating our working hypothesis. Additional studies are now planned to test and optimize this synthetic riboswitch in more complex contexts, using *in vitro* transcription termination and *in vivo* (or cell-free extract) reporter assays. Combining this Rho-dependent riboswitch with other devices, such as translational theophylline-sensing riboswitches, will be the next step to test if higher dynamic responses can be obtained with composite tandem-riboswitch systems.

Keywords : Synthetic biology, helicase, Rho, RNA, riboswitch.

Capacité de l'imagerie multimodale de l'os sous chondral pour la prédiction de l'évolution structural dans la gonarthrose

Nourhene SOULI¹, Eric LESPESSAILLES², Rachid JENNANE¹

¹ Laboratoire I3MTO Université d'Orléans

² Nouvel Hôpital Orléans la source

Avec le vieillissement de la population, les pathologies dégénératives de l'appareil locomoteur sont devenues des enjeux de santé publique majeurs. Particulièrement présente chez les populations âgées, l'arthrose, qui est l'affection la plus fréquente, représente la seconde cause d'invalidité après les maladies cardiovasculaires en France. Au niveau du genou l'arthrose est définie par la dégénérescence des cartilages de l'articulation fémoro-tibiale. Dans le cadre du diagnostic de la gonarthrose, la radiographie standard du genou est la méthode d'imagerie de référence. Elle sert également d'échelle de quantification pour le suivi de la maladie et l'évaluation de la réponse aux traitements. Cependant les recherches récentes ont montré que la résolution de ces radiographies est suffisante pour quantifier la microarchitecture osseuse. On peut ainsi extraire des descripteurs quantitatifs robustes pour la caractérisation de l'arthrose avant même l'apparition des signes radiographiques classiques.

Cependant, afin de mesurer ces différents paramètres il convient d'identifier et segmenter les structures en présence dans les radiographies. Cette étape est cruciale pour la précision et la reproductibilité des mesures, mais se fait encore manuellement dans le cadre de la routine clinique. Nous avons ainsi développé deux nouveaux algorithmes pour répondre à cette problématique.

Le premier permet de segmenter de manière automatique la région articulaire fémoro-tibiale. Il consiste, tout d'abord à séparer les tissus osseux des tissus mous par des méthodes statistiques adaptatives. Ensuite, grâce à une série d'opérations morphologiques, l'algorithme localise la position de la jonction articulaire (i.e. l'interligne articulaire) et délimite les contours des condyles fémoraux et des plateaux tibiaux.

Le deuxième algorithme permet de mesurer l'épaisseur du joint articulaire (i.e. mesure indirecte de la perte de cartilage) de manière entièrement automatique. Cette mesure présente un critère objectif et reproductible de suivi du pincement de l'interligne.

Enfin, afin de valider la démarche proposée, les algorithmes ont été testés sur les 4796 patients de la cohorte multicentrique de l'OsteoArthritis Initiative.

Thème : Traitement des images médicales.

Mots clés : Gonarthrose, segmentation, région articulaire, radiographie.

Effets d'extraits de pépins de raisins sur les paramètres métaboliques chez les poules reproductrices de souche chair

Barbe Alix¹, Mellouk Namya¹, Ramé Christelle¹, Grandhaye Jérémy¹, Venturi Eric², Cirot Marine², Staub Christophe², Petit Angélique¹, Anger Karine³, Chahnamian Marine³, Ganier Patrice³, Callut Olivier³, Cailleau-Audouin Estelle⁴, Metayer-Coustard Sonia⁴, Mairel François⁵, Riva Antonella⁵, Froment Pascal¹, Dupont Joëlle¹

¹INRA, UMR085 Physiologie de la Reproduction et des Comportements PRC - 37380 NOUZILLY,

²INRA, Unité Expérimentale de Physiologie Animale de l'Orfrasière UEPAO - 37380 NOUZILLY

³INRA, Unité Expérimentale du Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours UEPEAT – 37380 NOUZILLY

⁴INRA, UMR Biologie des Oiseaux et Aviculture – 37380 NOUZILLY

⁵INDENA – 37095 TOURS

Les poules reproductrices de type chair, alimentées à volonté et sélectionnées pour une croissance rapide présentent un engraissement excessif entraînant des troubles musculaires et cardiaques. Afin de réduire cet engraissement, une restriction alimentaire est pratiquée en élevage. Cependant, cette pratique alimentaire est source de stress et génère de l'agressivité. Les Extraits de Pépins de Raisins (EPR), riches en polyphénols, ont été envisagés comme complément alimentaire pour réduire l'engraissement. Ainsi, 4 groupes ont été constitués : témoin (A), supplémenté avec 0,5% (B) ou 1% (C) d'EPR dès 4 semaines et supplémenté avec 1% dès la naissance (D). Le poids corporel a été évalué ainsi que l'engraissement par échographie, toutes les 3 semaines, de 4 à 40 semaines. L'ingéré (pesées des restes d'aliment) a également été mesuré. Différents métabolites et hormones plasmatiques ont été dosés. Enfin, le poids des descendants a été déterminé à l'éclosion et à 10 jours d'âge.

Seul le lot D par rapport au lot A présente une diminution significative du poids corporel et de l'engraissement sans variation de l'ingéré alimentaire pendant toute la période de l'essai. Par dosage plasmatique, nous observons une diminution de la concentration en triglycérides pendant la croissance et la pré-ponte pour ce même lot. Nous avons également évalué les concentrations plasmatiques de trois adipocytokines (hormones marqueurs de l'état corporel). Sur la période de 4 à 40 semaines, la production de chémérine plasmatique diminue avec des concentrations croissantes d'EPR, tandis que l'adiponectine et la visfatine augmentent. La chémérine et l'adiponectine sont négativement corrélées avec le poids corporel et l'engraissement, tandis que la visfatine est positivement corrélée. En conclusion, une supplémentation de 1% d'EPR dès la naissance réduit la croissance et le stress oxydatif sans modifier l'ingéré. Enfin, la supplémentation en EPR augmente significativement le poids des descendants à l'éclosion (groupes B et D) et à 10 jours d'âge (groupes B, C et D) par rapport au groupe témoin et diminue la mortalité des poussins entre 0 et 10 jours d'âge.

Mots-clés : pépins de raisin, métabolisme, stress oxydatif, poule.

Effets d'une adipocytokine, la chémérine sur des cellules de Sertoli chez le poulet

Bourdon Guillaume¹, Estienne Anthony¹, Grandhaye Jérémy¹, Barbe Alix¹, Ramé Christelle¹, Jean-Pierre Eric¹, Froment Pascal¹, Dupont Joelle¹

¹INRA, UMR085 Physiologie de la Reproduction et des Comportements PRC - 37380 NOUZILLY

Depuis quelques années, de nombreuses études ont mis en avant le rôle du tissu adipeux blanc en tant qu'organe endocrinien, sécrétant des molécules appelées adipocytokines. Ces hormones pourraient influencer la fonction gonadique. Dans cette étude nous nous sommes focalisés sur une de ces adipocytokines, la chémérine. En effet, plusieurs études *in vitro* montrent que cette hormone a des effets néfastes sur les fonctions ovariennes chez les mammifères (Reverchon et al., 2012 et 2014). Chez le mâle, contrairement à la femelle, très peu de données sont disponibles à ce jour sur le lien entre la chémérine et la fertilité. Les objectifs de ce travail ont donc été de rechercher la présence de la chémérine et de ses récepteurs (CMKLR1, GPR1 et CCRL2) dans le testicule de poulet mais également de déterminer leurs effets *in vitro* sur les cellules de Sertoli. Nous avons choisi le modèle poulet afin de pouvoir répondre à une problématique de la filière qui est la baisse de la fertilité des animaux due à un engraissement. D'autre part, une étude récente du laboratoire montre que la chémérine plasmatique est négativement associée à l'éclosabilité des œufs de poule. Par RT-PCR et western-blot en utilisant des amorces et anticorps spécifiques poulet, nous avons mis en évidence la présence du système chémérine (le ligand et ses trois récepteurs) *in vivo* dans le testicule de coq à différents âges et nous avons étudié son rôle *in vitro* dans la fonction testiculaire. Sachant que les récepteurs de la chémérine sont présents dans les cellules de Sertoli, nous avons recherché les effets d'une exposition à la chémérine recombinante de poulet sur ces cellules. Ainsi, à l'aide de cultures primaires de cellules de Sertoli de coq de 5 jours, nous avons montré que la chémérine augmentait la phagocytose, une fonction essentielle pour l'élimination des corps résiduels produits par les spermatozoïdes et les cellules apoptotiques. Cet effet était observé sans pour autant affecter la viabilité cellulaire ou la sécrétion de lactate. Nous avons aussi étudié l'effet de la chémérine sur l'expression d'autres gènes importants pour la cellule de Sertoli. Nous avons montré que la chémérine (150 ng/ml, 24h d'incubation) augmentait l'expression de l'AMH (Hormone Anti-Mullérienne), effet qui était totalement aboli 48h après incubation, suggérant un effet transitoire de cette hormone sur le bon fonctionnement de la cellule la Sertoli.

Mots clés : Chémérine ; Testicule ; Cellules de Sertoli ; Poulets

Bisphenol S affects *in vitro* early developmental oocyte competence in ewe

DESMARCHAIS Alice¹, TETEAU Ophélie¹, PAPILLIER Pascal¹, Manon Jaubert¹, Xavier Druart¹, Aurélien Binet², Virginie Maillard¹, ELIS Sébastien¹.

¹UMR 85 PRC, CNRS, IFCE, INRA, Université de Tours, 37380, Nouzilly, France

²CHRU de Tours, 37000 Tours, France

In plastic industry, Bisphenol S (BPS) replaces Bisphenol A (BPA), as BPA is reported to be an estrogenomimetic endocrine disruptor damaging oocyte meiosis and maturation (Machtinger and Orvieto, 2014). Studies on fish and rodents reported that BPS affects reproduction similarly to BPA (Ahsan et al., 2018, Ullah et al., 2016). BPS is detected in human urines at nanomolar ranges (Liao et al., 2012). As rodent species showed resistance to bisphenols (Eladak et al., 2015), this study assessed BPS effects on ewe oocyte developmental competence, a relevant reproductive model for human.

Cumulus-oocyte complexes (COC) collected from ovine follicles underwent 24h *in vitro* maturation (IVM), in absence or presence of BPS 1 nM, 10 nM, 100 nM, 1 µM and 10 µM. Nuclear oocyte maturation rate was evaluated by matured oocyte count after chromatin Hoechst staining. At 6h IVM, BPS effects on estrogen (E2) and progesterone (P4) receptor mRNA expression were assessed in cumulus cells (CC) by RT-qPCR. After 24h IVM, BPS effect on P4 level was assessed in spent media by ELISA assay. After 24h IVM, matured COC underwent *in vitro* fertilization (IVF) and culture (IVC) during 7 days. Cleavage and blastocyst rates, informing on oocyte quality, were respectively assessed on day 2 and 7 post-IVF.

Our results showed significant decrease in oocyte maturation rate with BPS 10 µM compared to control. P4 concentration decreased with BPS 1µM compared to control. At 6h IVM, in CC, BPS had no effect on estrogen receptor (*ESR1*, *ESR2*, *GPER*) transcripts but BPS 10 nM decreased P4 receptor (*PR*) mRNA expression compared to control. Within oocytes undergoing IVF, BPS 1 µM significantly decreased cleavage rate compared to control. Among cleaved embryos, blastocyst rate significantly dropped with BPS 10 nM and 1 µM compared to control.

BPS at low dose during ovine IVM, reduced COC P4 secretion, *PR* transcript in CC and cleavage and blastocyst rates. Our data suggest that BPS, at environmental dose (10 nM), alters early developmental oocyte competence.

Supported by INRA, Region Val-de-Loire (BEMOL) and the French National Research Agency (ANR-18-CE34-0011-01 MAMBO). We thank A. Arnould and T. Delpuech for ovine ovary collection and Endocrinology and Phenotyping laboratory for P4 assay.

Mots-clés : Bisphenol S, oocyte maturation, oocyte competence, ewe

AdipoRon, un agoniste de l'adiponectine, réduit la prolifération et la stéroïdogénèse des cellules de granulosa

Grandhaye Jeremy¹, Plotton Ingrid², Floriane Levasseur¹, Hmadeh Sandy¹, Anthony Estienne¹, LeGuevel Remy³, Ramé Christelle¹, Fabrice Guerif⁴, Dupont Joëlle¹, Froment Pascal¹

1 : INRA UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Nouzilly, France.

2 : Molecular Endocrinology and Rare Diseases, University Hospital, Claude Bernard Lyon 1 University, Bron, France.

3 : Plate-forme ImPACcell, Université de Rennes 1, France

4 : CECOS, Hopital Bretonneau, Tours, France

L'alimentation, et le métabolisme énergétique peuvent influencer l'activité ovarienne. Ainsi un excès de poids ou une insulino-résistance peuvent conduire à une infertilité ou à un développement cancéreux tel que celui de l'ovaire. Le tissu adipeux jouerait un rôle important puisqu'il est connu pour être un des plus importants organes endocriniens de l'organisme en produisant des centaines de cytokines, comme l'adiponectine. Notre équipe a ainsi pu montrer que cette hormone, l'adiponectine, agit sur la prolifération des cellules du follicule et sur la sécrétions des stéroïdes. De plus les concentrations d'adiponectine dans le liquide folliculaire sont influencées par le statut métabolique. Récemment, une petite molécule synthétique appelée AdipoRon a été développée pour activer les récepteurs de l'adiponectine et améliorer l'insulino-résistance (Okada-Iwabu M et al., 2013). Dans cette étude, nous avons pour objectif d'étudier le rôle de cette molécule sur les cellules de la granulosa humaine. Les expériences ont été réalisées sur une lignée cellulaire, appelée KGN (Nishi et al., 2001) ainsi que sur des cultures primaires de granulosa. Les cellules ont été exposées à l'AdipoRon (2,5 μ M et 25 μ M) pendant 48 ou 96h. Deux doses ont été choisies d'après les données de la littérature (2,5 μ M, 25 μ M), puisqu'à 25 μ M la voie de signalisation de l'adiponectine est activée. Après 96h d'exposition à 25 μ M, nous avons observé une diminution de 30% de la prolifération chez les cellules primaires ainsi que la lignée à l'aide des techniques d'incorporation de BrdU et de l'expression de la protéine PCNA. Cette diminution ne semble pas associée à une augmentation de l'apoptose puisque l'activité de la caspase 3 reste inchangée. L'AdipoRon modifie aussi le métabolisme de la cellule de granulosa puisqu'une augmentation de la production de lactate et une réduction de la sécrétion des stéroïdes a été observé. Enfin, la production des espèces réactives oxygénées (ROS), marqueur du stress cellulaire, est diminuée. En conclusion, ces résultats indiquent que l'AdipoRon est capable de limiter la prolifération cellulaire ainsi que de modifier le métabolisme des cellules de granulosa. L'utilisation de cette molécule dans le traitement de diabète peut avoir des effets sur la fertilité, et à l'inverse pourrait être un potentiel médicament dans les stratégies thérapeutique requérant une diminution de la prolifération cellulaire ou de la production de stéroïdes des cellules de granulosa comme dans le cas de cancer ovarien ou des *cancers* hormonodépendants (ex. certains cancer du sein).

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

Caractérisation des sites de liaison de PGBD5, Approche *in silico*

Laura Helou, Linda Beauclaire, Florian Guillou, Yves Bigot
Équipe Plasticité Génomique et Expression Phénotypique, UMR PRC, INRA, Nouzilly

PiggyBac est un élément transposable (ET) autonome de 2475bp caractérisé à partir d'un clone baculoviral mutant cultivé sur une lignée de cellules de lépidoptère. Cet élément, *Tni-pble*, assure sa mobilité *via* un intermédiaire ADN et a un site cible d'insertion spécifique, le tetranucléotide TTAA. Ses extrémités présentent des répétitions terminales inversées (TIR) de 13bp et des répétitions sub-terminales inversées (STIR) de 19bp situées respectivement à 3 et 31bp des ITR 5' et 3'. Entre les STIR est présent un ORF de 1,8kb qui code une transposase piggyBac (PB) de 594 acides aminés. PB est capable de mobiliser en *trans* (excision et intégration à un autre locus) des *Tni-pble* non autonomes.

Les ET ont participé à l'évolution des gènes en étant une source de motifs *cis*-régulateurs de l'expression des gènes de leurs hôtes. Ils ont aussi été à l'origine de nouveaux gènes dérivés des ORF qu'ils contiennent. Ce processus est appelé domestication moléculaire ou exaptation. Un inventaire des gènes codant des transposases piggyBac domestiquées (PGBD) chez les eucaryotes indique que 6 gènes ont été à ce jour répertoriés chez les vertébrés, PGBD1 à 5 et Kobuta. La distribution de PGBD1 et PGBD2 est limitée aux génomes de mammifères, PGBD3 et PGBD4 aux primates, Kobuta aux anoures. PGBD5 est présent chez tous les vertébrés, depuis les céphalochordés. PGBD5 résulte donc d'une domestication dans l'ancêtre commun des céphalochordés et des vertébrés.

PGBD5 a été montrée être une transposase parfaitement fonctionnelle qui est exprimée chez les mammifères dans le système nerveux central au niveau des neurones pyramidaux de l'hippocampe, de l'amygdale et du bulbe olfactif. Notre hypothèse est que PGBD5 médie des réarrangements d'ADN dans les neurones qui sont nécessaires au fonctionnement du cerveau des vertébrés. PGBD5 serait la clé de ce mécanisme et tout ou partie des autres PGBD auraient été acquises au cours de l'évolution pour en accroître la complexité.

La conservation élevée de la protéine PGBD5 chez les vertébrés suggère que son mécanisme d'action et ses cibles de liaison sont également conservés. Cependant, la spécificité de liaison à l'ADN de PGBD5 interpelle. En effet, l'activité de transposition de PGBD5 a été montrée en utilisant un élément distant, *Tni-pble*. PGBD5 peut donc mobiliser en *trans* des éléments distants en se liant à leurs extrémités.

Nos travaux visent à localiser les espèces de *pble* les plus proches de chaque gène PGBD de vertébrés pour étudier l'organisation des séquences et la conservation de leurs TIR.

Mots-clés : PiggyBac, transposase, domestication

Premier atlas IRM de l'encéphale de caille japonaise pour l'étude des connexions cérébrales de deux lignées divergentes STI et LTI

Marine Siwiaszczyk¹, Raïssa Yebga Hot², Mélody Morisse¹, Cyril Poupon², Ludovic Calandreau¹, Baptiste Mulo³, Scott Love¹, Elodie Chaillou¹

¹UMR PRC, INRA, CNRS, IFCE, Université de Tours, Nouzilly, France ; ²NeuroSpin, CEA, Gif-Sur-Yvette, France ; ³ZooParc de Beauval & Beauval Nature, Saint-Aignan, France

Les lignées divergentes de cailles japonaises STI et LTI (STI, Short Tonic Immobility et LTI, Long Tonic Immobility) sont un excellent modèle pour l'étude du lien entre les comportements émotionnels et le cerveau, en particulier pour explorer les connexions du réseau neuronal de peur. Pour cela, nous avons choisi d'utiliser l'imagerie par résonance magnétique (IRM) de diffusion pour décrire l'ensemble des connexions cérébrales. Ne disposant que d'un atlas stéréotaxique partiel (Bayle et al., 1974), nous avons choisi de créer un atlas IRM digital de l'encéphale de caille. Un atlas IRM cérébral est un espace défini fournissant un système standard de coordonnées anatomiques ainsi qu'une segmentation, totale ou partielle, voxel par voxel, des régions anatomiques. Ce type d'atlas peut être créé à partir d'une région, d'un hémisphère, d'un individu ou d'un template moyen (image représentative d'un groupe de plusieurs individus). C'est cette dernière option que nous avons choisie afin de tenir compte de la variabilité interindividuelle. Notre travail a donc consisté à créer un template moyen de l'encéphale de caille japonaise à partir duquel nous avons créé l'atlas IRM.

Des encéphales de cailles mâles adultes STI (n=10) et LTI (n=10) ont été imagés *ex vivo* avec une IRM 11,7T (NeuroSpin, CEA Saclay) pour obtenir des images anatomiques SE (SpinEcho). Les images SE de chaque encéphale ont été moyennées pour créer un template. En se basant sur les variations de niveaux de gris et des données de la littérature (caille, poussin, canari ou mésange), les régions anatomiques ont été délimitées puis nommées.

A l'issue de ce travail, nous avons créé ce premier atlas de caille composé de 180 régions délimitées dont 130 régions nommées.

Mots-clés : Cerveau, Comportement, Imagerie, Oiseau, Template

Bisphénol S versus Bisphénol A et la fonction de reproduction femelle : effets sur les cellules de granulosa ovines primaires *in vitro*

Ophélie Téteau, Manon Jaubert, Alice Desmarchais, Pascal Papillier, Sébastien Elis

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

Le **bisphénol A** (BPA), un plastifiant utilisé dans les emballages de boissons et d'aliments, les produits papiers, etc... a été interdit en 2015 dans l'industrie alimentaire à cause de ses effets délétères sur la reproduction mâle et femelle. Ces effets s'expliquent par l'homologie d'une partie de la structure de cette molécule (cycle phénol) avec celle de l'œstradiol (Figure 1), une hormone essentielle à la fonction de reproduction femelle. Le BPA a alors été récemment remplacé par un analogue structural : le **bisphénol S** (BPS). Actuellement, son utilisation augmente de façon exponentielle et n'est pas réglementée, de plus ses effets sont peu connus.

Le gamète femelle, appelé ovocyte, est entouré des **cellules de granulosa** (CGs), essentielles pour sa croissance et sa maturation. Ces cellules ont deux fonctions principales : la prolifération et la stéroïdogenèse (sécrétion hormonale de progestérone et œstradiol). Cette structure est nommée follicule ovarien.

Le but de cette étude est de déterminer les effets *in vitro* du BPA et du BPS, sur les CGs ovines primaires ; la brebis étant un modèle pertinent pour la reproduction de la femme.

Après ponction folliculaire d'ovaires de brebis provenant d'abattoirs, les CGs sont collectées et purifiées, puis traitées avec ou sans concentrations croissantes de BPA ou BPS (de 1 nM à 200 µM) pendant 48 heures. La viabilité cellulaire, leur capacité de prolifération, les concentrations de progestérone et œstradiol sécrétées par les CGs, ainsi que leurs expressions géniques et protéiques impliquées dans certaines voies de signalisation ont été évaluées.

Nos résultats ont notamment montré que **le BPA et le BPS altèrent la stéroïdogenèse des CGs**. Les deux molécules ont augmenté significativement la sécrétion d'œstradiol de façon similaire à partir de 10 µM. A l'inverse, elles ont diminué la sécrétion de progestérone à partir de 100 µM pour le BPA et seulement 10 µM pour le BPS. **Ainsi, le BPS n'est probablement pas une alternative sûre au BPA.**

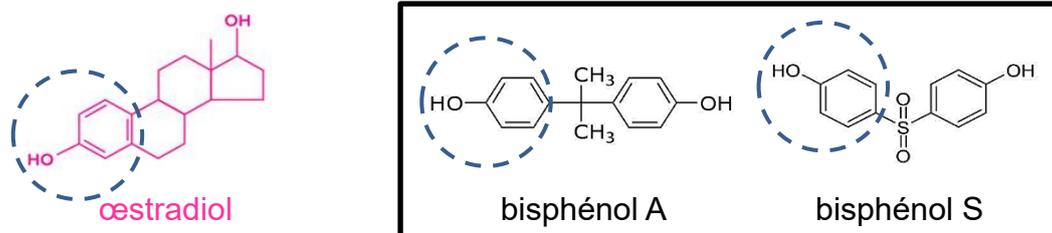


Figure 1 : Structure moléculaire de l'œstradiol et des bisphénols A et S

Mots clés : Perturbateur endocrinien ; Bisphénol S ; Cellules de granulosa ; Stéroïdogenèse

Site-specific conjugation of auristatins onto engineered antibody fragments to target her2-positive breast cancer *in vitro*

Imène Ait Mohamed Amar (1), Nicolas Aubrey (2), Emilie Allard-Vannier (3), Juliette Lamamy (2,3), Clément Gautron (2,3), Catherine Horiot (2), Louis Jolivet (2), Stéphanie Letast (1), Camille Martin (1), Cyril Colas (4,5), Zineb Lakhri (2), Isabelle Dimier-Poisson (2), Igor Chourpa (3), Marie-Claude Viaud-Massuard (1) and Nicolas Joubert (1).

1. GICC EA7501, Université de Tours, Team IMT, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France

2. ISP UMR 1282, INRA, Université de Tours, Team BioMAP, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France

3. NMNS EA 6295, Université de Tours, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France

4. ICOA UMR 7311, Université d'Orléans, CNRS, rue de Chartres, 45067 Orléans, France

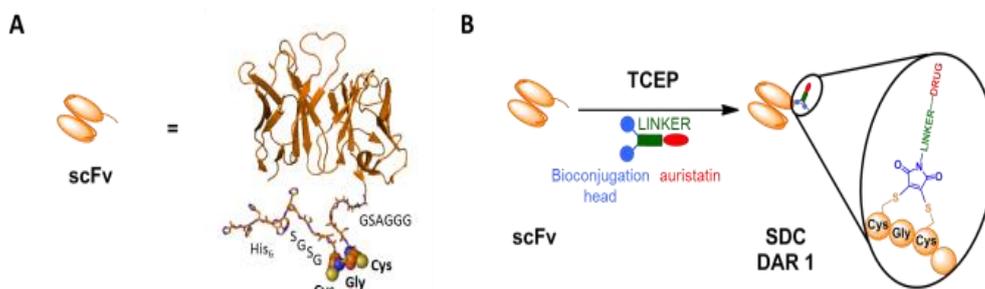
5. CBM UPR 4311, CNRS, Université d'Orléans, rue Charles Sadron, 45071 Orléans, France

The combination of a highly potent cytotoxic agent (drug) with a specific therapeutic monoclonal antibody (mAb) *via* a suitably constructed spacer arm (linker) (Figure 1) appear to be an ideal embodiment of the “magic bullet” concept leading to the development of a novel therapeutic class named Antibody-Drug-Conjugates (ADC). This armed antibodies can be viewed as a way to improve tumor-cell killing while sparing normal tissues. While ADC have been successfully implemented in clinical strategies for the treatment of hematological cancers, the case of solid tumors suffer from insufficient ADCs activity at the maximum doses that can be tolerated. Currently, almost all ADC in clinical trials are based on canonical IgG molecules associated with limitations including bad tumor penetration as well as Fc-mediated off-target toxicity, due to an increase of normal tissue exposure (due to long half-life *via* FcRn recycling) and cross reaction with immune cells (due to Fc γ R interactions). Thereby, the aim of our project is to use antibody fragments to try to circumvent this limitations.

Our strategy is based on a site-specific conjugation of an auristatin derivative onto an engineered anti-HER2 antibody fragment including single chain fragment variable (scFv) of the trastuzumab antibody, generating new scFv-drug conjugates (SDC). Cysteines were judiciously incorporated in the scFv aminoacid sequence to allow controlled bioconjugation of a heterobifunctional linker, either cleavable (for monomethyl auristatin E) or noncleavable (for monomethyl auristatin F) (Figure 1).

Figure 1: (A) Schematic representation of an anti-HER2 scFv. (B) Site-specific scFv-drug conjugate (SDC) with a drug-to-antibody ratio (DAR) of 1, resulting from the reduction of its disulfide bridge

followed by conjugation of a linker-auristatin



Cleavage of therapeutic monoclonal antibodies hinge region : more than a subclass story

Quentin Deveuve¹, Laurie Lajoie¹, Benjamin Barrault¹, Gilles Thibault^{1,2,3}

¹EA7501 Innovation and Cell Targeting Group, Fc Receptor, Antibodies and MicroEnvironment team, Université de Tours – Tours, France

²ERL CNRS 7001 LNOx, Université de Tours - Tours, France

³Laboratory of Immunology Tours, CHRU de Tours, Tours, France

The hinge region of IgG, is involved in C1q and FcγRIIIa-expressing NK cells recruitment. Both heavy chain (HC) of the hinge region can be cleaved sequentially by several proteases of the tumor/inflammatory/infectious microenvironment, including matrix metalloproteinases12 (MMP12) or IdeS (*Immunoglobulin-degrading enzyme from Streptococcus pyogenes*), impairing Fc-mediated functions. The cleavage of therapeutic monoclonal antibodies (TmAbs), which are based on human IgG1, IgG2 or IgG4 structure, has been poorly investigated, although it may represent an escape mechanism to these treatments. Therefore, we compared by non-reducing SDS-PAGE, the cleavage kinetic of five IgG1 (trastuzumab, rituximab, cetuximab, infliximab, ipilimumab), one IgG2 (panitumumab) and two IgG4 (nivolumab and pembrolizumab) TmAbs by IdeS and MMP12, which were found to cleave the first and second HC with different kinetic. We observed that panitumumab was more protease-resistant than IgG1 and IgG4 TmAbs. The latter were usually the more protease-sensitive while IgG1 TmAbs were usually cleaved with intermediate kinetic. However, intra-subclass variability was observed among IgG4 and IgG1 TmAbs. Nivolumab and pembrolizumab were cleaved similarly by MMP12, whereas the latter was more IdeS-resistant. Ipilimumab was more IdeS-sensitive and MMP12-resistant than the other IgG1 TmAbs, This observation was unrelated to G1m allotype. Finally, we observed, using ELISA and flow cytometry, that a single cleavage of IgG1 TmAbs dramatically decreased their affinity for FcγRIIIa and C1q, and their ability to induce FcγRIIIa-dependent functional responses of NK cells. Overall, our results indicate that the cleavage of the hinge should be considered in TmAbs treated-patient care and in the development of new molecules.

Mots clefs: Therapeutic antibodies; hinge region; protease; IgG subclass

Inhaled Nanocarrier / Antisense Therapy for Pulmonary Fibrosis A multidisciplinary European project

Coralie Mergault¹, Gilles Divita², Benoit Erra³, Sandrine Le Guellec¹, Jonas Renz⁴, Otmar Schmid⁵, Rita Vanbever⁶, Dimitris Visvikis⁷, Nathalie Heuzé-Vourc'h¹, Laurent Plantier^{1,3}.

¹ Centre d'Etude des Pathologies Respiratoire (CEPR)/Inserm U1100, Université de Tours, Tours, France ;
²Div'incell, Nîmes, France; ³CHRU de Tours, Tours, France ; ⁴Secarna Pharmaceuticals, Munich, Germany ;
⁵Helmholtz Zentrum München, Comprehensive Pneumology Center (CPC), Munich, Germany ; ⁶Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium; ⁷Laboratoire de Traitement de l'Imagerie Médicale (LaTIM)/Inserm U1101, Brest, France

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a severe, rare, heterogeneous disease where activation of lung fibroblasts plays a key role. At the present time, antifibrotic drugs (nintedanib, pirfenidone) slow IPF but fail to stop the disease process and have a low therapeutic index.

The current project aims to develop a novel IPF therapy, which combines 1) high mechanistic specificity by using oligonucleotides to target fibrogenic pathways identified from IPF lung fibroblasts, 2) optimized pharmacokinetics by using inhaled delivery (to achieve highest concentrations of the active compound in lungs) and specific peptide nanocarriers (to increase retention time in the lungs, increase cellular uptake, and protect the active compound against nucleases), and 3) specific aerosol delivery protocols to overcome the preferential distribution of inhaled drugs to the unaffected regions of IPF lungs.

To achieve these objectives, multiple European teams contribute to the project. CEPR identified and currently characterizes the novel molecular target. CEPR also selects optimal formulations and aerosol generation devices. Secarna (Germany) designed antisense oligonucleotides (ASO) against the target. Divincell (France) provides peptide nanocarriers for ASO delivery. CPC develops aerosolization protocols *in vitro* and *in vivo*. University of Louvain is tasked with biodistribution and *in vivo* toxicology studies. CEPR, Tours university hospital and LATIM collaborate to develop nebulization protocols specific to IPF in humans to enable clinical development of the novel therapy.

Key-words: aerosoltherapy, IPF, nanocarriers

Nanomedecines fonctionnalisées par un scfv anti-EGFR pour le ciblage actif des cellules de cancer du sein triple négatif

Vinh NGUYEN¹, Katel Hervé-Aubert¹, Nicolas Aubrey², Igor Chourpa¹, Émilie Allard-Vannier¹
1. EA6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Université de Tours, Tours, France
2. ISP UMR 1282, INRA, équipe BioMAP, Université de Tours, Tours, France

Contexte: Les nanovecteurs magnétiques à base de nanoparticules d'oxydes de fer superparamagnétiques (SPIONs) apparaissent comme un système prometteur pour l'administration ciblée de médicaments (1) et comme agents d'imagerie (2). On parle alors de nanomédecines (NM) théranostiques. Le ciblage des tumeurs à l'aide des NM peut-être amélioré par le greffage de ligands biologiques comme des fragments d'anticorps de type scFv (single chain variable fragment) (3). Pour le diagnostic, les NM peuvent être utilisés en tant qu'agents de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM) ou détectées en imagerie de fluorescence grâce au couplage d'un fluorochrome proche infrarouge (fluoPIR) à la surface. Il est également possible de complexer des polyplexes sur les NM permettant ainsi la délivrance intracellulaire ciblée de siRNA. Cette étude porte sur l'évaluation de ces NM fonctionnalisés avec un scFv anti-EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) pour le ciblage actif du cancer du sein triple négatif (CSTN) et l'impact de la modification de la couche polymérique sur l'interaction de ces NM avec les cellules cancéreuses.

Résultats : Grâce au couplage par scFv anti-EGFR, les NM ont montré une bonne affinité et un spécifique ciblage des cellules de CSTN (lignée MDA-MB231). En effet, la pénétration dans les cellules correspondantes des NM ciblées est 4 et 6 fois plus élevée que les NM sans scFv à 4 heures et 24 heures d'incubation respectivement. En augmentant la couche de polymère en surface des NM, nous démontrons une diminution de la pénétration cellulaire de ces NM sans l'agent de ciblage, cette réduction étant ensuite gommée suite au greffage de l'agent de ciblage. Les SPIONs-PEG entre mieux dans les cellules cancéreuses que les SPIONs-2xPEG mais au contraire les SPIONs-PEG-scFv entre moins bien que les SPIONs-2xPEG-scFv au même temps d'incubation. De plus, l'accroissement de la couche de polymère ne perturbe pas la complexation entre les NM et les siRNA car les propriétés physico-chimiques mesurées restent très semblables.

Conclusions : Cette étude montre que les NM fonctionnalisées par scFv anti-EGFR sont prometteuses pour le ciblage actif du cancer du sein triple négatif.

Mots-clés : Cancer du sein triple négatif (CSTN), Epidermal growth factor receptor (EGFR), single chain variable fragment (scFv), superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs).

NANOSONDES POUR SERS BIOANALYTIQUE DANS LE PROCHE IR

Mathias Pacaud¹, Katel Hervé-Aubert¹, Martin Soucé¹, Amir Fahmi², Alexey Feofanov³, Anastasia Ignatova³ Igor Chourpa¹

1. UFR des Sciences Pharmaceutiques, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France

2. Université Rhein-Waal des Sciences Appliquées, Marie-Curie Strasse 1, 47533 Kleve, Allemagne

3. Institut de Chimie Bioorganique Shemyakin and Ovchinnikov, Ulitsa Miklukho-Maklaya, 16/10, K.7, 117198 Moscou, Russie

La spectroscopie de diffusion Raman exaltée de surface (SERS, comme surface-enhanced Raman scattering)¹ est une technique bio-analytique sensible, spécifique et une sélective. L'excitation dans la région des 630 à 850 nm est favorable aux applications bio-analytiques, car cette plage de longueurs d'onde permet un compromis entre une interaction minimale de la lumière avec les tissus biologiques² et une bonne efficacité des sources laser et des détecteurs³.

Nous présenterons nos travaux sur le développement de colloïdes de nanofleurs d'or (AuNFs) en tant que nouveaux substrats SERS actifs dans la plage 630-900 nm. Pour l'effet SERS excité avec la source laser à 691 nm, nous avons utilisé des AuNFs ayant la bande de résonance plasmonique située autour de 700 nm et la taille en MET d'environ 60 nm. Nous présenterons nos données sur les AuNFs enveloppées de divers matériaux (silice, polymères biocompatibles) afin de les protéger contre une dégradation et l'agrégation mais également pour améliorer leur compatibilité pour des applications bio-analytiques *in vitro* et *in vivo*. Les résultats incluront la stabilité chimique et physique des nanosondes, leur capacité à produire l'effet SERS pour les molécules d'intérêt (médicaments anticancéreux, labels fluorescents) et à pénétrer dans les cellules cancéreuses.

Remerciements

Ce travail a été financé par le projet MINERVA (programme ERA-NET RUS PLUS): RFBR 16-54-76013 (Russie), 01DJ16019 (Allemagne) et MENESR N ° 321 (France). Les auteurs remercient la Dr. S. David pour son aide à la conception expérimentale et J.Burlaud-Gaillard (Centre IBiSA de l'Université de Tours) pour les images MET. Ils remercient aussi l'aide financière apportée par le conseil départemental 37 permettant de compléter la 3e année de thèse de M. Pacaud.

Références

1. L.E. Jamieson et al., Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif), 10, 415, 2017.
2. R.Weissleder. Nature Biotechnol., 19, 316, 2001.
3. A.Smith et al., Nat Nanotechnol., 4, 710, 2009.

17f derivatives, synthesis and biological evaluation of new inhibitors targeting STAT5 proteins in myeloid leukemias treatment

Marion Polomski ⁽¹⁾, Marie Brachet-Botineau ^(2,3), Ludovic Juen ⁽⁴⁾, Fabrice Gouilleux ⁽²⁾, Marie-Claude Viaud-Massuard ⁽¹⁾, Gildas Prié ⁽¹⁾.

- (1) Equipe IMT "Innovation Moléculaire et Thérapeutique" – GICC EA 7501 – Université de Tours – Labex SYNORG – Faculté de Pharmacie – 31 av Monge – 37200 Tours – France.
 (2) Equipe LNOx "Niche Leucémique & métabolisme Oxydatif" – GICC ERL 7001 CNRS – Université de Tours – Faculté de Médecine – Bâtiment Dutrochet – 10bis bvd Tonnellé – 37032 Tours – France.
 (3) CHRU de Tours, Service d'Hématologie Biologique, 2 bvd Tonnellé – 37044 Tours – France.
 (4) McSAF – 1 rue Claude Thion – 37000 Tours – France.

Myeloid leukemias are myeloproliferative diseases that affect hematopoietic stem cells (HSC) and are divided in two types acute (AML) and chronic (CML). STAT5 (Signal Transducers and Activators of Transcription 5) is suractivated by the oncoproteins Bcr-Abl in CML and FLT3-ltd in AML thanks to their tyrosine kinase activity and is a transcriptional key factor involved in CML and AML cell proliferation, differentiation and apoptosis. Today, despite known tyrosine kinase inhibitors treatment such as Imatinib Mesylate (IM, Glivec®) for Bcr-Abl, mutations and resistances occur making STAT5 pathway a new and relevant target.

A first structure-activity relationship study, allowed us to identify one compound, **17f**, which inhibited the growth of AML and CML cell lines 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.

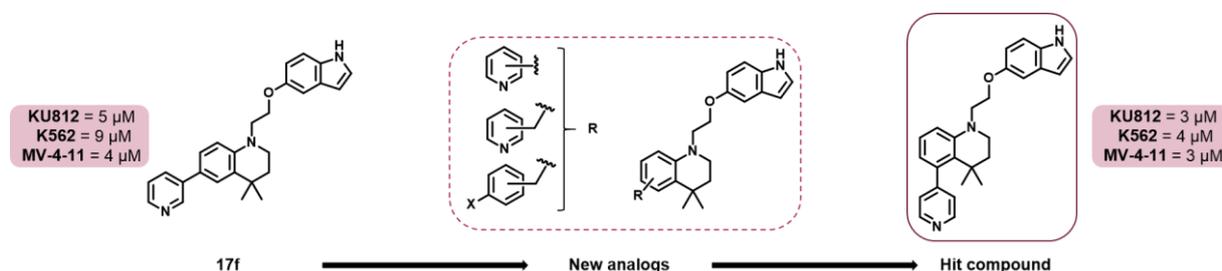


Figure 1. Lead **17f**, new analogs and hit compound

Thanks to these results, synthesis of **17f** new analogs with modulation around the tetrahydroquinoline (THQ) ring have been undertaken and their biological evaluation were carried out on model CML (KU812, K562) and AML (MV-4-11) cell lines. Among these new results, one compound, with the 4-pyridinyl in position 5 on the THQ ring, shows slightly better results than **17f** on all cell lines. This outcome will guide further modulation work on the THQ ring with others nitrogen heterocycles (pyridazine, triazine, etc.).

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

Nano-encapsulation intelligente d'actifs cosmétiques

Louise Van Gheluwe, Eric Buchy, Sonia Asstito, Martin Soucé, Katel Hervé-Aubert, Igor Chourpa, Emilie Munnier.

Université de Tours, EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Faculté de Pharmacie, Tours

Le projet MISTIC (ARD-2020 Cosmétosciences) explore l'encapsulation d'actifs cosmétiques dans des nanosystèmes à base de polymères « intelligents » répondant à des stimuli externes (température, lumière) ou des stimuli internes (potentiel redox) afin d'assurer une libération contrôlée des molécules actives.

Parmi les polymères présentant une thermosensibilité, les Pluronic[®] (copolymères triblocs PEO-PPO-PEO) sont bien connus et autorisés pour une utilisation cosmétique. Leur biocompatibilité en fait des candidats potentiels pour l'élaboration de systèmes d'encapsulation destinés à la protection puis à la libération contrôlée d'actifs cosmétiques. Dans cette étude, le Pluronic[®] F127 commercial a été chimiquement modifié par ajout d'une amine terminale pour favoriser les interactions électrostatiques avec le cheveu. Le polymère modifié a été caractérisé par spectrométries Infrarouge et RMN. Un dosage en CLHP-UV a permis d'évaluer à $68 \pm 1\%$ la quantité de fonctions hydroxyles terminales transformées en fonctions amines.

Des nanomicelles de Pluronic[®] F127-NH₂ encapsulant un dérivé de la vitamine B5 ont été préparées par la méthode d'émulsion/évaporation de solvant assistée par ultrasons. Les nanomicelles obtenues, d'environ 25 ± 1 nm de diamètre, ont permis d'encapsuler ce dérivé avec une efficacité d'environ 91 %. La thermosensibilité de ces systèmes a été étudiée à la fois en solution aqueuse par spectrométrie de corrélation de photons et par microspectroscopie de fluorescence après application sur des mèches de cheveux blancs de nanosystèmes marqués au rouge Nile. On observe une thermosensibilité avec une température de transition entre 60 et 75°C, compatible avec l'utilisation d'un sèche-cheveux ou fer à lisser. En parallèle, la toxicité de ces systèmes a été évaluée sur des kératinocytes et fibroblastes en culture car ils pourront être en contact avec le cuir chevelu lors de leur utilisation (MTT).

Mots-clés : libération contrôlée, stimulus, température

Identification de gènes impliqués dans la fonction testiculaire des vertébrés et des invertébrés par phylogénie moléculaire et analyse expressionnelle

C Lécureuil¹, S Fouchécourt², P Monget²

1 IRBI UMR 7261 CNRS / Université de Tours

2 PRC UMR Centre INRA de Nouzilly

Les données disponibles sur la fertilité de nombreuses espèces animales restent lacunaires, en particulier chez le mâle. Notre projet propose de répondre à ce manque, en identifiant des gènes majeurs de la fertilité mâle dans des espèces animales modèles (drosophile, souris) à partir des bases de données existantes, et à en déduire, dans des espèces représentatives de taxons d'intérêt pour l'agronomie (poulet) et le maintien de la biodiversité (*Nasonia vitripennis*, guêpe parasitoïde) des gènes potentiellement importants pour la reproduction. La méthodologie originale repose sur des données *in silico* et expérimentales pour l'évaluation de 1- la conservation génomique (par phylogénie moléculaire) de gènes pertinents physiologiquement parlant ; 2- la conservation de la spécificité tissulaire (par analyse expressionnelle *in silico* et expérimentale). Par ailleurs, elle associe une démarche directe/reverse entre vertébrés et invertébrés, avec une 1^{ère} étape qui identifie des gènes nouveaux chez les invertébrés à partir de l'espèce modèle souris, et une 2^{ème} qui identifie des gènes chez les vertébrés (souris et poulet) à partir de l'espèce modèle drosophile.

Cette approche phylogénique basée sur un brassage de données phénotypiques et expressionnelles a permis de mettre en évidence de nouveaux gènes potentiellement importants pour la fonction testiculaire chez plusieurs vertébrés et invertébrés incluant nos espèces d'intérêt agronomique, le coq et écologique, la guêpe *Nasonia*. Parmi eux, certains n'étaient pas identifiés comme étant importants pour la fonction testiculaire (*Lrrc46*, *Pabpc6*). Enfin, les analyses de Gene Ontology ont confirmé que les gènes conservés au cours de l'évolution sont impliqués dans la biologie des cellules germinales, en particulier dans le métabolisme des acides nucléiques.

Etude financée par la Région Centre Val de Loire (Fertilimale) et le projet européen IMAGE

[1] Fouchécourt, Picolo, Elis, Lécureuil et al. BMC Evol Biol. 2019 ;19(1):137

Approches de génomique comparative et de métagénomique chez les patients atteints de mucoviscidose colonisés par *Aspergillus fumigatus* et traités par triazolés

Baptiste Bidon¹, Jose Felipe Munoz², Jean-Philippe Bouchara¹, Christina A. Cuomo², Nicolas Papon¹, Jean-Pierre Gangneux³

¹ Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène (GEIHP, EA 3142), SFR ICAT 4208, UNIV Angers, UNIV Brest, Angers, France.

² Broad Institute of MIT and Harvard, Cambridge, MA, 02142, USA.

³ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, France.

L'instauration d'un traitement antifongique précoce par azolés chez les patients atteints de mucoviscidose et colonisés par *Aspergillus fumigatus* reste controversée en l'absence de manifestations cliniques. Les indications de ces antifongiques demeurent imprécises, voire contestées, car leur impact sur la virulence du champignon, la composition du microbiote et l'émergence de résistances sont encore peu étudiés.

Le projet ATCF (Antifungal Therapy during Cystic Fibrosis) a suivi au long cours 11 patients provenant de 2 centres français et 1 centre anglais, présentant une colonisation chronique à *A. fumigatus*. Ils ont été randomisés pour recevoir un traitement antifongique azolé précoce par itraconazole ou voriconazole.

Nous avons séquencé le génome complet d'isolats d'*A. fumigatus* provenant d'expectorations de patients traités par deux azolés différents et ayant dans les deux cas dû affronter une résurgence du champignon. Ainsi, nous avons pu différencier une ré-infestation par un nouveau génotype, de la persistance d'une même souche à l'état quiescent pendant le traitement. Nous avons déjà pu identifier parmi les souches résurgentes des marqueurs génétiques typiquement associés à des résistances aux azolés.

Nous cherchons désormais à caractériser l'évolution du génome de ces souches en présence de traitements et notamment celle affectant des gènes pouvant influencer la sensibilité aux antifongiques et la virulence. Couplée à l'analyse comparative des phénotypes et génotypes d'*A. fumigatus*, cette étude devrait nous permettre de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la physiopathologie et la résistance chez les patients atteints de mucoviscidose et d'améliorer leurs prises en charge.

Les conférences et les Pitches sont classés 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 ci dessous correspondent au numéro de page du résumé de la conférence ou du poster.

Abboud S.	page 59	Lamassiaude N.	page 19
Ait Mohamed Amar I.	page 74	Laurent M.	page 61
Asselin M.	page 56	Laverny G.	page 18
Barbe A.	page 67	Lecureuil C.	page 81
Bernard P.	page 10	Le Mauff A.	page 62
Bind M.A.	page 6	Lemos Cruz P.	page 43
Bourdon G.	page 68	Lenga W.	page 13
Brégeon M.	page 37	Lié O.	page 44
Cadène M.	page 14	Majdoub S.	page 63
Cezard A.	page 47	Mergault C.	page 76
Chami A.	page 38	Nguyen V.	page 77
Chazeirat T.	page 7	Oyallon B.	page 20
Chettouh-Hammas N.	page 57	Pacaud M.	page 78
Chuard A.	page 48	Papon N.	page 82
Cochard J.	page 8	Pescheteau C.	page 64
Cordovado A.	page 39	Pinton P.	page 11
Courdavault V.	page 15	Piollet M.	page 45
Cuello C.	page 58	Polomski M.	page 79
Deneuve Q.	page 75	Pons M.	page 53
Desmarchais A.	page 69	Ribiero E Silva A	page 54
Doray A.	page 40	Simon I.	page 65
Drouin A.	page 49	Simorre J.P.	page 24
Figon F.	page 12	Siwiaszczyk M.	page 72
Fouchécourt S.	page 81	Soklou K.	page 21
Garcia Riviera D.	page 16	Souli N.	page 66
Grandhayé J.	page 70	Téteau O.	page 73
Guirimand G.	page 23	Treguier Y.	page 55
Halewa J.	page 41	Van Gheluwe L.	page 80
Hano C.	page 22	Wils L.	page 46
Hashim O.	page 50		
Helou L.	page 71		
Herrscher C.	page 51		
Hinsen K.	page 17		
Houchat J.N.	page 14		
Jabbour N	page 52		
Jouad K.	page 38		
Kouba S.	page.42		
Kovalenko A.	page 60		
Labas V.	page 50		

JEUDI 10 Octobre 2019

<p>8h30 9h00 - 9h15</p>	<p>Accueil des participants OUVERTURE DU COLLOQUE- Session académique Christian ANDRES, <i>Président de Biotechnocentre</i> Présidents ou Vice-présidents des Universités d'Orléans et de Tours Anne BESNIER, <i>Vice-Présidente déléguée à l'enseignement supérieur et à la recherche du Conseil Régional Centre-Val de Loir</i></p>
<p>SESSION 1 9h15 - 10h00</p>	<p>Marie-Abele BIND, <i>Harvard University, USA</i> Les effets de l'ozone sur notre épigénome</p>
<p>SESSION 2 10h 00 - 10h 15 10h 15 - 10h 30 10h 30 - 10h 45 10h 45 - 11h 00 11h00 - 11h30</p>	<p>Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modérateurs : Sébastien Roger et Isabelle Virlogeux-Payant Filière A : CHAZEIRAT Thibault, <i>CEPR, Inserm U 1100, Equipe 2, Université de Tours</i> GAG storage disorder: the harmful impact of HS in cysteine cathepsin activity Filière B : COCHARD Jade, <i>MAVIVH, Inserm U1259, Université de Tours</i> Development of a physiologically relevant cell culture model based on hypoxia for the study of the HCV life cycle Filière C : ABBOUD Skander, <i>CBM, UPR4301 CNRS, Equipe AMV, Université d'Orléans</i> Développement de bras enzymo-labiles pour la synthèse totale de protéines par ligations chimiques sur support solide Session Pitches (7 pitches 1 min 30) PAUSE-CAFE</p>
<p>SESSION 3 11h30 - 12h00 12h00 - 14h00</p>	<p>Philippe BERNARD, <i>Kinnov Therapeutics, Orléans, France.</i> KT110, un candidat médicament contre les addictions : Du concept scientifique à la concrétisation industrielle. PHOTO DU GROUPE & REPAS</p>
<p>SESSION 4 14h00 - 14h45</p>	<p>Philippe PINTON, <i>INRA-TOXALIM, UMR 1331, Toulouse, France</i> Les mycotoxines, des contaminants alimentaires naturels</p>
<p>SESSION 5 14h45 - 15h00 15h00 - 15h15 15h15 - 15h30 15h30 - 15h45 15h45 - 16h15 16h15 - 16h30</p>	<p>Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modérateurs : Franck Suzenet et Emilie Allard-Vannier Filière D : FIGON Florent, <i>IRBI, UMR 7261 CNRS, Université de Tours</i> Identification de la xanthommatine non cyclisée, un intermédiaire clé de la biosynthèse pigmentaire des omnochromes chez les invertébrés Filière A : LENGA Woodys, <i>CEPR, Inserm U 1100, Equipe 2, Université de Tours</i> Le TFPI-2, tissue factor pathway inhibitor-2, regule les fonctions de la kallicréine 5 dans les pathologies pulmonaires Filière C : HOUCHAT Jean-Noël, <i>LBLGC, UPRES EA 1207 / USC INRA 1328, Université d'Orléans</i> Régulation intracellulaire de deux récepteurs nicotiniques neuronaux de blatte par la calmoduline Session Pitches (6 pitches 1 min 30) ASSEMBLEE GENERALE PAUSE-CAFE</p>
<p>SESSION 6 16h30 - 17h00 17h00 - 17h45</p>	<p>Vincent COURDAVAULT, <i>BBA, EA2106, Tours, France</i> Alcaloïdes anticancéreux : les ultimes secrets de la pervenche de Madagascar Dagmar GARCIA RIVERA, <i>Finlay Vaccine Institute, La Habana, Cuba.</i> Cuban experience in vaccines development</p>
<p>SESSION 7 17h45 - 18h00 18h00 - 19h45 19h45 - 20h00 20h00</p>	<p>Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Session Pitches (6 pitches 1 min 30) SESSION POSTER APERITIF REPAS & SOIREE BIOTECHNOCENTRE</p>

VENDREDI 11 Octobre 2019

SESSION 8

9h00 -09h45

Konrad HINSEN, CBM, UPR4301 CNRS, Orléans, Synchrotron SOLEIL, Saclay, France
Expérience, statistique, calcul : la trinité de la reproductibilité scientifique

9h 45 -10h 30

Gilles LAVERNY, IGBMC, Inserm U1258, Illkirch, France
Signalisation médiée par la vitamine D et maladies rares

10h 30-11h 00

PAUSE-CAFE

SESSION 9

Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modérateurs : *Florian Guillou et Christelle Suppo*

11h 00 - 11h 15

Filière B : LAMASSIAUDE Nicolas, ISP, UMR INRA, Université de Tours

Effets des lactones macrocycliques sur les canaux chlorure glutamate-dépendant du nématode parasite du cheval *Parascaris sp.*

11h 15 - 11h 30

Filière E : OYALLON Bruno, GICC, EA 7501/ERL 7001 LNOx-CNRS, Université de Tours

DESIGN, SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION OF QUINOXALINE-2-CARBOXYLIC ACID ANALOGUES AS POTENT PIM-1 KINASE INHIBITORS

11h 30 - 11h 45

Filière C : SOKLOU Kossi, ICOA, UMR7311 CNRS, Université d'Orléans

Méthodologie de synthèse d'hétérospirocycles pour la diversité moléculaire et la chimie médicinale

SESSION 10

Présentations des plateformes de spectrométrie de masse de la Région CVDL

11h 45 - 12h 15

Martine CADENE (CBM, UPR 4301 CNRS, Orléans) et Valérie LABAS (Plateforme CIRE, INRA, Nouzilly)

12h 15 - 14h 00

REPAS

SESSION 8

14h 00 - 14h 05

Présentation de l'Association des doctorants ADOCT

14h 05 - 14h 35

Christophe HANO, LBLGC, UPRES EA 1207 / USC INRA 1328, Université d'Orléans, Orléans, France

Projet région MariLine : Valorisation de la biodiversité structurale issue de populations sauvages et cultivées de *Chardon Marie* pour des applications Cosmétiques

14h 35 - 15h 20

Grégory GUIRIMAND, LE STUDIUM RESEARCH FELLOW / ARD 2020 - BIOMÉDICAMENTS Programme et Université de Kobe, Japon & BBA, EA2106, Tours, France

Combined cell-surface display technology and metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for xylitol production and nanofibrillation of lignocellulosic biomass

15h 20 - 16h 05

Jean-Pierre SIMORRE, Institut de Biologie Structurale, CEA-CNRS-Université de Grenoble, France

Interactions moléculaires avec la paroi cellulaire bactérienne

16h15

REMISE DES PRIX & CLOTURE