

ACTES
du
33^{ème} Colloque
BIOTECHNOCENTRE

7-8 Octobre 2021
Center Parcs de Sologne
(Chaumont-sur-Tharonne)

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 - Catherine BEAUMONT, INRAE Université de Tours, catherine.beaumont@inrae.fr - Hélène BENEDETTI (vice-Présidente), CBM CNRS Orléans, helene.benedetti@cnrs-orleans.fr - Marc BERTRAND, Technologie Servier, marc.bertrand@fr.netgrs.com - Franck BRIGNOLAS, Université d'Orléans, franck.brignolas@univ-orleans.fr - Norbert BROMET, Biotec Centre, bromet.n@gmail.com - Jean-Claude CHENIEUX, Université de Tours, chenieux@univ-tours.fr - Jean-Louis DACHEUX, INRAE CNRS Nouzilly, jean-louis.dacheux@orange.fr - Catherine DAGORN-SCAVINER, Région Centre, catherine.dagorn-scaviner@regioncentre.fr - Agnès DELMAS, CBM CNRS Orléans, agnes.delmas@cnrs-orleans.fr - Francis GAUTHIER, Université de Tours, francis.gauthier@univ-tours.fr - Florian GUILLOU, INRAE Université de Tours, florian.guillou@univ-tours.fr - Nathalie GUIVARCH, Université de Tours, nathalie.guivarch@univ-tours.fr - Denis MARCHAND, polepharma, denis.marchand@polepharma.com - Michel MONSIGNY, CNRS-Université d'Orléans, monsigny@cnrs-orleans.fr - Aurélien MONTAGU, Le Studium, aurelien.montagu@lestudium-ias.fr - Thierry MOREAU, Université de Tours, thierry.moreau@univ-tours.fr - Emile MUNNIER, Université de Tours, emilie.munnier@univ-tours.fr - Gilles PILATE, INRAE Ardon-Orléans, gilles.pilate@inrae.fr - Henri SALMON, INRAE Nouzilly, hsalmoncr@gmail.com - Catherine TARAGNAT, INRAE, Nouzilly-Tours, catherine.taragnat@inrae.fr - Dieudonnée TOGBE, CNRS Université d'Orléans, dieudonnee.togbe@cnrs-orleans.fr - Marie- Claude VIAUD-MASSUARD, Université de Tours, marie-claude.viaud-massuard@univ-tours.fr
Président : Bertrand CASTAING, CBM CNRS Orléans, castaing@cnrs-orleans.fr
Secrétariat : Nathalie RICHE, Université de Tours, biotechnocentre@sfr.fr

Chères doctorantes et chers doctorants de l'ED 549, chères et chers collègues et ami(e)s,

Voilà près de deux ans que le conseil d'administration de Biotechnocentre m'a confié la présidence de notre association labélisée en 2014 « Réseau Thématique de Recherche » (RTR) par la région Centre-Val de Loire. En concertation avec l'école doctorale 549 SSBCV, nous avons planifié et engagé avec enthousiasme dès les premiers mois de l'année 2020 et ce, malgré la première vague de Covid-19 et le confinement à partir du mois de Mars, de nombreuses actions :

- une journée thématique gratuite au printemps
- un appel d'offre à mobilité européenne pour 2 doctorants de l'ED 549
- le colloque annuel à l'automne

Nous étions encore très optimistes quant à l'issue du premier confinement au mois de Mai. Finalement, mes premières décisions fortes en tant que Président ont été d'annuler la journée thématique et ensuite, très rapidement derrière, notre colloque annuel. Après sélection d'une doctorante à l'appel d'offre à mobilité européenne, cette nouvelle action de Biotechnocentre a avorté suite à la fermeture des frontières européennes. Je devais donc me résigner à être un Président au chômage technique et sans voix.

Mais cela n'était pas compatible avec le milieu de la Recherche qui ne peut être que mouvant et dynamique pour exister et c'est encore plus vrai pour une association comme Biotechnocentre. C'est à partir de ce moment-là que les « fées » Zoom et Teams, assistées du « sorcier » Le Studium, ont fait leur apparition sur nos consoles et exercé leurs « sortilèges » en nous proposant des alternatives pour maintenir tant bien que mal un lien « en distanciel » entre nous. A ce jour, je peux vous avouer que les systèmes de visioconférences, aussi imparfait soient-ils, ont sauvé en partie ma présidence à la tête de Biotechnocentre. Nous nous sommes appropriés ces outils en organisant une journée thématique exceptionnelle sur les coronavirus au mois d'avril 2021 (<https://www.lestudium-ias.com/event/ce-que-vous-avez-toujours-voulu-savoir-coronavirus>). Avec près de 180 inscrits et 110 connectés en moyenne tout au long de la journée, cette conférence a été une vraie réussite avec une table ronde ayant permis de nombreux échanges en particulier sur la pandémie de la Covid-19 et sur la question de la vaccination. A ce propos, je vous renvoie au bulletin d'information biannuel de Biotechnocentre (issues n°72 à 75) dans lequel nous avons essayé de vous informer sur l'état de cette recherche en Région et même au-delà. Je voudrais ici remercier Nathalie Winter (INRAE, ISP, Nouzilly), Sylvie Chalon (Université de Tours), Denys Brand (Faculté de Médecine de Tours) et Pascal Bonnet (Université d'Orléans) des RTRs FéRi et MotivHealth qui nous ont aidés à organiser cette journée sans oublier Astrid Vabret (CHU de Caen) et Daniel Marc (INRAE, ISP, Nouzilly) qui ont animé à la perfection la table ronde et Maurine Villiers et Aurélien Montagu de Le Studium qui ont assuré la logistique et la captation des conférences.

Forts de cette première réussite et toujours en collaboration avec nos collègues de Le Studium, nous avons organisé fin juin 2021 et toujours en distanciel une journée thématique « Cellules souches et organoïdes : réalités et perspectives » (<http://www.lestudium-ias.com/content/cellules-souches-organoïdes-realites-perspectives>). Avec 240 inscrits et jusqu'à 148 connectés en même temps, cette journée scientifique a eu un retentissement national (c'est un avantage des webinaires) avec des retombées inattendues. Je vous invite à lire l'article de Catherine Taragnat à ce propos dans le bulletin d'information n°75.

Malgré ces francs succès de l'année 2021 qui atténuent un peu l'année noire que nous venons de passer, un sentiment d'inachevé persistait au sein de l'association suite à l'annulation de notre colloque annuel qui implique fortement notre association dans l'animation de l'Ecole Doctorale Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant (ED 549 SSBCV) commune aux Universités d'Orléans et de Tours, compte tenu de l'importance que nous accordons à la formation des étudiants à la recherche et par la recherche. Outre le fait que ce colloque est l'occasion de réunir des conférenciers régionaux et des personnalités scientifiques extérieures de haut niveau et qu'il favorise des interactions entre le monde de la recherche académique et celle du secteur privé, il offre aussi une tribune importante pour la présentation des travaux de recherche des doctorants de l'ED 549 mais en plus est l'occasion d'une compétition stimulante et saine entre nos jeunes chercheurs en herbe pour aller décrocher de nombreux prix (via des communications orales, par affiche et pitches).

Aussi, c'est un réel plaisir pour moi d'annoncer le 33^e colloque de Biotechnocentre « en présentiel ». Suite aux fermetures successives du domaine de Seillac puis du domaine de Chalès (Nouan-le-Fuzelier), nous sommes accueillis cette année à Center Parcs Domaine des Hauts de Bruyères en Sologne (Chaumont-sur-Tharonne, Loire-et-Cher). Je voudrais ici remercier les conférenciers qui avaient répondu positivement à notre invitation en 2020 d'avoir tous répondu présents encore une fois en 2021 et aux doctorants d'avoir répondu massivement à l'appel à communication lancé par l'ED 549 au mois de Mai-Juin. Je n'ai pas de doute que vous tous assurerez le succès du 33^e colloque de Biotechnocentre et démontrerez clairement le dynamisme de la Recherche, de l'Enseignement Supérieur et de l'Innovation en région Centre-Val de Loire dans les domaines des Sciences de la Vie, de la Santé et du Bien Être.

Au nom du Conseil d'Administration de Biotechnocentre, je tiens à remercier le Conseil Régional de la région Centre-Val de Loire pour son soutien financier constant sans lequel ce colloque ne pourrait avoir lieu. Je voudrais aussi adresser mes remerciements aux organismes de recherche le CNRS, l'INRAE et les universités d'Orléans et de Tours mais aussi aux entreprises de la Région et à Le Studium qui soutiennent fortement nos actions. Mon mandat à la tête de l'association s'achevant en fin d'année, il est temps pour moi d'adresser mes plus sincères remerciements à mes collègues, à tous mes amis et membres de Biotechnocentre et de l'ED 549 sans lesquels rien de tout cela n'aurait été possible.

Il ne me reste plus qu'à vous souhaiter un excellent colloque.

Je terminerai cet éditorial avec une pensée émue pour notre collègue du Centre de Biophysique Moléculaire du CNRS à Orléans bien trop tôt disparu, Rachid Rahmouni, mon collègue de pallier avec qui j'avais de nombreux échanges sur la Science mais pas que... et qui surtout était un expert mondialement reconnu dans le domaine de la transcription et plus récemment dans le contrôle qualité des ARN messagers, un domaine d'actualité s'il en est avec les vaccins à ARN développés contre le SARS-CoV-2. Merci Rachid d'avoir porté très haut les couleurs de la Recherche française.

Bien à vous

Bertrand Castaing
Président de Biotechnocentre

Conférences

(Numérotation selon le déroulé du colloque)

1- La Pharmacologie à l'ère des Nanotechnologies

Terence STRICK

2- Développement de cellules usines de levure pour la sécurisation de la production de l'anticancéreux ETOPOSIDE

Jennifer PERRIN

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

Adeline CEZARD

4- Nanosized bimodal imaging agents based on ytterbium complexes

Anton KOVALENKO

5- Développements méthodologiques pour la synthèse chimique de protéines

Vincent AUCAGNE

6- Déterminants comportementaux et neurobiologiques du comportement maternel chez les ovins

Frédéric LEVY

7- Décryptage des possibles mécanismes centraux d'action du β Nerve Growth Factor (β NGF) dans l'induction de l'ovulation chez la souris

Flavie DEROUIN TOCHON

8- Srn024, un petit ARN impliqué dans l'adaptation du pathogène *Streptococcus agalactiae* à son environnement

Nancy JABBOUR

9- Involvement of astrocytes and neuroinflammatory processes in nociceptive defects of Fmr1 KO mice, model of Fragile X syndrome

Vidian de CONCINI

10- Protein translation enhancement therapy for the treatment of neurodegenerative diseases

Kathia ZALETA RIVERA

11- Proteolytic homeostasis at the cutting edge of IBD: Focus on gastrointestinal inflammation

Moez RHIMI

12- Inhibiteurs de la transférase bactérienne MraY, vers de nouveaux antibiotiques

Christine GRAVIER-PELLETIER

13- Intérêt de l'épigénétique pour les plantes dans le cadre du changement climatique

Stéphane MAURY

14- Le comportement de body-shaking produit des vibrations complexes chez les termites souterrains

Louis PAILLER

15- Modulation de l'expression du récepteur néonatal à la portion Fc des IgG (FcRn) durant la différenciation des monocytes en macrophages

Juliette LAMAMY

16- Analyse de peptides à visée pharmaceutiques par chromatographie unifiée couplée à la spectrométrie de masse

Jérémy MOLINEAU

17- Les Bactériophages en thérapie humaine

Alain DUBLANCHET

18- Applications biotechnologiques des vésicules extracellulaires

Éric GUEDON

19- NeoVirTech, une entreprise spécialisée dans l'identification de nouveaux anti-viraux

Franck GALLARDO

20- Le rôle du microclimat dans la réponse des insectes au changement climatique

Sylvain PINCEBOURDE

CONFERENCES

La Pharmacologie à l'ère des Nanotechnologies

D. Kostrz¹, J. Portman¹, F. Rey², E. Baquero Salazar², P. Guardado Calvo², F. Rico³, F. Stransky¹, C. Valloteau³, A. Triller¹, C. Specht¹, C. Gosse¹, T. Strick¹

¹Institut de Biologie de l'Ecole normale supérieure ²Institut Pasteur ³Laboratoire Adhésion et Inflammation AMU

Au cours des vingt-cinq dernières années, chimistes, biologistes et physiciens ont œuvré ensemble pour développer des méthodes haute résolution dites « molécule-unique », permettant d'observer en temps réel des molécules biologiques individuelles en cours d'interaction. Cet accès direct au « quantum » d'interaction entre molécules a permis de comprendre la mécanistique précise associée au fonctionnement des moteurs moléculaires tels les polymérases, topoisomérases, hélicases, fonctionnant sur l'ADN, mais également les kinésines, myosines, et autres moteurs du transport cellulaire. Ces objets ont pu être étudiés « physiquement » car leur activité donne lieu à un déplacement physique à grande échelle, aisément observé sous le microscope optique.

Cependant, de nombreuses interactions moléculaire ne génèrent pas un tel signal de déplacement physique, et n'ont donc pas pu être étudiées par ces méthodes. Afin de remédier à cette situation, nous avons développé un nouvel outil moléculaire qui utilise l'ADN comme échafaudage nanotechnologique sur lequel nous pouvons greffer des molécules d'intérêt, et dont la conformation, mesurée en continu, nous renseigne en temps réel sur l'état d'interaction entre les molécules greffées. Nous décrivons l'utilisation de cet échafaudage pour la caractérisation des interactions protéines-protéines et drogues-protéines, en soulignant comment des nouvelles observables et métriques physiques permettent d'enrichir la caractérisation pharmacochimique d'une molécule médicamenteuse.

Mots-clés : Nanotechnologies, molécule-unique, ADN, origami, pharmacologie

Développement de cellules usines de levure pour la sécurisation de la production de l'anticancéreux ETOPOSIDE

Jennifer Perrin, Sébastien Besseau, Nathalie Guivarc'h, Vincent Courdavault

EA 2106 - Biomolécules et Biotechnologies Végétales (BBV) – Université de TOURS

L'ETOPOSIDE est un dérivé de podophyllotoxine présentant une forte activité inhibitrice des topoisomérases de type II et qui s'avère très couramment employée dans de nombreuses polychimiothérapies. La production de cette molécule dépend exclusivement du sourcing en podophyllotoxine, actuellement extraite des rhizomes de la plante himalayenne *Podophyllum hexandrum*. La forte demande en ETOPOSIDE impose une énorme pression sur les ressources naturelles occasionnant de longues pénuries d'approvisionnement. Dans ce contexte, ces travaux de thèse CIFRE visent à développer une stratégie alternative de synthèse par des approches d'ingénierie métabolique. Il s'appuient plus spécifiquement sur la création d'une souche de levure capable de bioconvertir un précurseur amont (la yatéine hautement biodisponible) en (-)-4'-desmethyl-epipodophyllotoxine directement utilisable pour la production d'ETOPOSIDE. Pour ce faire, les gènes de biosynthèse correspondants issus de *P. hexandrum* ont été intégrés, via le système CRISPR/Cas9, dans le génome de la souche de levure industrielle (*Saccharomyces cerevisiae*) CEN-PK. L'évolution du squelette moléculaire de la souche a principalement été axé sur la balance des copies de gènes transférés et sur l'optimisation des rendements d'activité catalytique de l'étape d'hydroxylation terminale catalysée par une cytochrome P450 via : le suivi de l'accumulation de l'enzyme, la mesure de son activité *in planta*, la modification de la structure de l'enzyme (substitution du domaine transmembranaire d'ancrage au réticulum endoplasmique, production d'une enzyme soluble), le criblage d'isoformes ou d'orthologues de l'enzyme ou l'emploi d'une cytochrome P450 réductase spécifique de *P. hexandrum*. La combinaison de ces éléments a permis une optimisation majeure du flux métabolique aboutissant à un rendement de 100% de bioconversion de la yatéine fournie aux levures en culture. A terme, cette souche sera transférée au groupe industriel Axyntis pour une culture en bioréacteurs de haute contenance afin de sécuriser l'approvisionnement en ETOPOSIDE via la relocalisation de sa production en région Centre Val de Loire. Mots-Clefs : Ingénierie métabolique, levure, bioconversion, podophyllotoxine, étoposide, bioréacteur.

Identification of a host immunoregulatory metabolite that protects against influenza A and B pneumonia

Adeline CEZARD¹, Déborah BREA-DIAKITE¹, Virginie VASSEUR¹, Loïc GONZALES¹, Thomas BARANEK¹, Christophe PAGET¹, Ronan LE GOFFIC², Bruno Da Costa², Antoine GUILLON^{1,3} and Mustapha SI-TAHAR¹

1. Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Inserm U1100, Université de Tours; 2. Virologie et Immunologie Moléculaires, INRAe, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas; 3. Service de Réanimation Polyvalente, CHRU de Tours.

Influenza is a major public health issue, causing 500 000 deaths per year and a considerable socioeconomic burden. Severe influenza results from the intrinsic pathogenicity of influenza A (IAV) and B (IBV) viruses, added to an excessive inflammatory host response. Frequent vaccine escape and emerging antiviral resistance spur innovative research on host-directed therapy against influenza. In that regard, some host metabolites have recently emerged as potent immuno-regulatory and antimicrobial molecules. We tested the impact of several host metabolites on influenza infection and found that one mitochondria-derived metabolite (coined here "C2") has anti-inflammatory and antiviral activity. We first found that C2 decreases the activation of NF- κ B signaling pathway. C2 considerably reduces pro-inflammatory cytokines production due to influenza infection. Moreover, C2 shows anti-viral properties against IAV as well as IBV strains by a mechanism involving a disruption of the virus replication cycle. More precisely, we found that C2 prevents the expression of viral mRNA and protein synthesis. In vivo, the antiviral and anti-inflammatory properties of C2 limit viral production and lung damage caused by IAV. Finally, we showed that mice receiving C2 in a curative manner through the intranasal route are fully protected against IAV pneumonia.

Nanosized bimodal imaging agents based on ytterbium complexes

A. Kovalenko¹, G. Collet¹, S. El Abdellaoui¹, C. Besnard²
S. Natkunarajah³, S. Lerondel³, S. V. Eliseeva¹, S. Petoud¹

¹ Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR4301, Orléans, France

² Laboratory of Crystallography, University of Geneva, Geneva, Switzerland

³ Centre d'Imagerie du Petit Animal, TAAM CNRS UPS44, Orléans, France

Photoacoustic (PA) and near-infrared (NIR) luminescence imaging are novel imaging techniques which use the NIR light operating in the biological transparency window as an excitation source. Creation of dual-mode imaging agents would allow to combine the advantages of two techniques: high sensitivity and high resolution of the NIR luminescence imaging with high signal detection depth of the PA imaging.

Lanthanide complexes formed with NIR-absorbing chromophores are promising candidates for the creation of the dual-mode agents. Lanthanide ions possess unique luminescence properties which makes them excellent candidates for the luminescence imaging. However, they have small values of molar excitation coefficients, so organic chromophores have to be used for the sensitization of the lanthanide ions. At the same time, organic chromophores can create the photoacoustic signal by dissipating the part of the excitation energy by the non-radiative processes. The presence of both the NIR-emitting lanthanide ion and the organic chromophore in the lanthanide complex allows using the same molecule for the creation of the bimodal imaging agents. In this work, we present a new dual-mode photoacoustic and NIR luminescence imaging agent based on the polystyrene nanoparticles loaded with NIR-emitting lanthanide complexes containing NIR-absorbing chromophores.

Mots-clés : photoacoustic, near-infrared luminescence, lanthanide complexes, nanoparticles

Développements méthodologiques pour la synthèse chimique de protéines

Skander Abboud, Hélène Adihou, Mehdi Amoura, El hadji Cisse, Mathieu Galibert, Dominique Lelièvre, Jean-Baptiste Madinier, Philippe Marceau, Victor Terrier, Ibai Valverde, Agnès Delmas, Vincent Aucagne

Groupe « Protéines de Synthèse et Chimie Bio-orthogonale », Centre de Biophysique Moléculaire, Orléans

La synthèse « chimique » de protéines est une alternative prometteuse à l'expression recombinante pour des applications au décryptage de mécanismes biologiques, la découverte de médicaments, et la biologie synthétique. Elle est particulièrement utile pour accéder à des protéines modifiées de manière site-spécifique. Les techniques actuelles sont fondées sur l'assemblage modulaire de segments peptidiques non protégés, par le biais de réactions extrêmement sélectives, de « ligation chimique ». Cette approche a révolutionné le domaine il y a une trentaine d'années et se démocratise progressivement pour la synthèse de petites protéines (50-100 acides aminés). Cependant, l'accès à des cibles plus ambitieuses en termes de taille ou de complexité reste un véritable tour de force encore réservé à de rares spécialistes. Trois goulots d'étranglement majeurs restent à être surmontés : (1) l'assemblage de multiples segments par ligations successives, qui nécessite des étapes de purification répétées conduisant à des rendements globaux très faibles, (2) la manipulation de segments peu solubles ou sujets à l'agrégation, et (3) le développement de méthodes de ligations plus efficaces, tant du point de vue de la nature des réactions chimiques utilisées que de la synthèse de segments peptidiques convenablement fonctionnalisés. L'objectif principal de notre groupe repose sur la conception et le développement de méthodologies originales pour dépasser ces limites. Notre objectif est de construire une boîte à outils moléculaire robuste et polyvalente visant à simplifier l'accès aux protéines de taille moyenne. Notre second axe de recherche est consacré à des applications à diverses problématiques biologiques, à travers la synthèse de petites protéines difficiles d'accès par voie recombinante.

Mots-clés : peptide, protéine, synthèse organique, ligation chimique

Déterminants comportementaux et neurobiologiques du comportement maternel chez les ovins

Frédéric Lévy

CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, F-37380, Nouzilly, France.

Les comportements parentaux incluent l'ensemble des conduites qui nourrissent et protègent le nouveau-né jusqu'à son autonomie. Cette fonction majeure pour la survie des espèces est la résultante de causalités ultimes, relatives aux avantages sélectifs, et proximales, relatives aux facteurs environnementaux et physiologiques, ces derniers étant l'objet de notre recherche.

Chez les mammifères, bien que le comportement maternel présente des traits communs on observe des variations d'expression liées principalement au développement sensori-moteur du nouveau-né. Les mammifères nidicoles dont le nouveau-né est immature, construisent un nid autour duquel le comportement maternel se développe sans qu'une reconnaissance individuelle des jeunes s'établisse. Les mammifères nidifuges, comme les ovins, ont un nouveau-né présentant un développement moteur et sensoriel avancé permettant de maintenir un contact avec la mère. Dans ce groupe, la mère établit une relation exclusive avec son jeune qui est seul accepté à l'allaitement. Ainsi, les ovins offrent l'opportunité unique d'étudier les déterminants sensoriels, physiologiques et neurobiologiques de deux composantes distinctes mais complémentaires du comportement maternel : la **motivation maternelle** caractérisée par l'attrait pour tout nouveau-né à la mise-bas et la **sélectivité maternelle** qui s'opère grâce à la mise en place d'une reconnaissance individuelle du jeune. Nous avons montré que la **motivation maternelle** est déterminée à la parturition par les modifications des niveaux plasmatiques de stéroïdes, la stimulation cervico-utérine et la libération au niveau cérébral d'ocytocine. Ces changements physiologiques sont responsables de l'attraction pour les odeurs du liquide amniotique recouvrant l'agneau et impliquent des structures cérébrales comme l'aire préoptique médiane et le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. La **sélectivité maternelle** repose sur l'apprentissage de l'odeur du jeune familier qui s'établit en moins de 4 heures après la parturition. Nos études électrophysiologiques et neurochimiques montrent que l'odeur de l'agneau est codée dans le bulbe olfactif. De plus, l'inactivation de l'amygdale, une structure cérébrale connectée au bulbe olfactif, empêche l'établissement de cet apprentissage. Les systèmes noradrénergiques et cholinergiques sont indispensables à cet apprentissage tout comme les processus de neurogenèse olfactive. Ainsi, chez les ovins, nous mettons en évidence deux réseaux neuronaux distincts, mais en interactions, impliqués dans l'émergence du comportement maternel à la parturition.

Décryptage des possibles mécanismes centraux d'action du β Nerve Growth Factor (β NGF) dans l'induction de l'ovulation chez la souris

Flavie Derouin Tochon¹, Renaud Fleurot¹, Laurence Dufourny¹, Ya-Lin Huang², Didier Lomet¹, Vincent Robert¹, William H Colledge², Massimiliano Beltramo¹ and Anne Duittoz¹.

1 Physiologie de la Reproduction et des Comportements (PRC) UMR7247 INRA, CNRS, Centre INRA Val de Loire, Université de Tours, IFCE, 37380 Nouzilly, France.

2 Reproductive Physiology Group, Department of Physiology, Development, and Neuroscience, University of Cambridge, Cambridge CB2 3EG, United Kingdom.

Le déclenchement de l'ovulation requiert une cascade complexe d'évènements où les neurones à GnRH jouent un rôle clé. Chez les mammifères, l'ovulation peut avoir lieu de façon spontanée ou être induite par un accouplement. Le β Nerve Growth Factor (β NGF) a été récemment décrit, comme étant le facteur déclenchant l'ovulation chez les espèces à ovulation induite. En utilisant le modèle murin, nous cherchons à vérifier si le β NGF peut déclencher l'ovulation chez les espèces à ovulation spontanée et à comprendre les mécanismes sous-jacents.

Cinquante souris femelles prépubères ont reçu 5UI de PMSG et 48 heures plus tard l'un de ces cinq traitements : NaCl, du hCG ou du β NGF (0.1 μ g, 1 μ g, 10 μ g/souris). Les 3 doses de β NGF induisent l'ovulation de façon comparable à l'hCG (taux d'ovulation: hCG=80%, β NGF 0.1 μ g=80%, 1 μ g=80%, 10 μ g=100%, NaCl=10%).

Pour vérifier si l'effet du β NGF implique l'activation des neurones à GnRH, nous avons réalisé un protocole d'induction de l'ovulation incluant des souris prétraitées ou non avec un antagoniste un récepteur de la GnRH : le Cétrorelax. Cent vingt-huit souris femelles prépubères ont été réparties dans cinq lots recevant un des cinq traitements suivants : β NGF (1 μ g), Cétrorelax (50ng) + β NGF (1 μ g), GnRH (50ng), Cétrorelax (50ng) + GnRH (50ng), NaCl. Le β NGF et le GnRH induisent l'ovulation et leurs effets sont supprimés par l'administration de Cétrorelax (Cétrorelax+ β NGF vs β NGF : $p < 0.05$). Ces résultats suggèrent que, chez la souris, le β NGF nécessite l'intervention des neurones à GnRH pour déclencher l'ovulation.

Pour rechercher les sites d'action du β NGF au niveau de l'hypothalamus, nous avons utilisé une approche immunohistochimique pour localiser le récepteur p75NTR du β NGF sur des cerveaux de souris ovariectomisées et sous implant d'oestradiol. p75NTR a été retrouvé dans l'organe vasculaire de la lame terminale (OVL), le noyau arqué (ARC), l'éminence médiane (ME). Parmi les cellules exprimant p75NTR, on trouve des neurones et des tancytes. Parmi les neurones exprimant p75NTR, aucun n'exprime la GnRH ou la Kisspeptine.

En conclusion, l'action de la GnRH est requise pour permettre au β NGF d'induire l'ovulation chez la souris, mais le β NGF n'agit pas directement sur les neurones à GnRH ni sur les neurones à kisspeptine. La poursuite de ce travail en utilisant des souris KO per la kisspeptine et son récepteur vise à établir si les systèmes β NGF agit en amont du système Kisspeptine.

Mots-clés : β NGF, p75NTR, ovulation, GnRH, kisspeptine

Srn024, un petit ARN impliqué dans l'adaptation du pathogène *Streptococcus agalactiae* à son environnement

Nancy Jabbour¹, Eric Morello¹, Lucie Noël^{1,2}, Emilie Camiade¹, et Marie-Frédérique Lartigue^{1,2}

¹ Université de Tours, INRAE, ISP, F-37000, Tours, France

² Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Service de Bactériologie, Virologie, et Hygiène Hospitalière, Tours, France

Streptococcus agalactiae est la première cause d'infections néonatales humaines et un pathogène opportuniste pour plusieurs hôtes. Afin de survivre et coloniser l'hôte, la bactérie s'adapte à son environnement en modulant l'expression de ses gènes. Les petits ARN (sRNA), impliqués dans cette régulation, peuvent eux-mêmes être régulés par les systèmes à deux composants (TCS). Chez *S. agalactiae*, quatre sRNA ont été identifiés par RNAseq : Srn015, Srn024, Srn070 et Srn085. Des prédictions bio-informatiques indiquent que ces sRNA, nommés csRNA, seraient régulés par le TCS CiaRH. Les objectifs de ce travail sont de prouver le rôle de CiaRH dans l'expression de ces sRNA et d'identifier une cible de Srn024, afin de mieux comprendre les réseaux de régulation bactériens. Pour prouver l'appartenance de ces sRNA au régulon CiaR, leur expression a d'abord été quantifiée par fusions transcriptionnelles dans les souches NEM316WT, NEM316 Δ *ciaRH* et NEM316 Δ *ciaRH::ciaRH*^{in situ}. La séquence promotrice TTAAAG-5N-TTAAAG de Srn024, qui semble indispensable à la régulation des sRNA par la protéine CiaR, a été mutée afin d'évaluer par fusion transcriptionnelle l'impact de ces mutations sur l'expression de Srn024. Des prédictions bio-informatiques ont été réalisées pour identifier les cibles potentielles de Srn024. La régulation traductionnelle des gènes cibles par Srn024 a été évaluée dans NEM316WT, NEM316 Δ *srn024* et NEM316 Δ *srn024::srn024*^{in situ} à l'aide d'un plasmide de fusion traductionnelle construit au laboratoire. Les fusions transcriptionnelles ont permis de mettre en évidence une régulation positive des quatre sRNA par le TCS CiaRH. De plus, les mutations réalisées dans la séquence promotrice TTAAAG-5N-TTAAAG montrent que cette séquence est indispensable pour la régulation de Srn024 par CiaR. Les analyses bio-informatiques ont permis d'identifier l'ARNm Gbs1288 comme cible potentielle de Srn024 (-17,17 Δ g). La fusion traductionnelle a montré une régulation négative de cette cible par Srn024. Gbs1288 est une pullulanase produite en présence de pullulane et de glycogène dans la souche COH1. Cependant, cette protéine n'est pas exprimée en présence de glucose. Ces résultats semblent indiquer que *S. agalactiae* s'adapte aux sources nutritives disponibles dans son environnement par le biais de Srn024.

Mots-clés : *Streptococcus agalactiae* - CiaRH - ARN régulateurs - CsRNA

Involvement of astrocytes and neuroinflammatory processes in nociceptive defects of *Fmr1* KO mice, model of Fragile X syndrome.

Vidian de Concini¹, Rania Boussad¹, Marylène Bertrand² and Arnaud Menuet¹

(1) Immunologie et Neurogénétique Expérimentales et Moléculaire, CNRS UMR7355, Université d'Orléans

(2) Centre de Biophysique moléculaire, CNRS UPR4301, Université d'Orléans

Fragile X Syndrome (FXS) is the most common inherited cause of intellectual disability. FXS is caused by a large expansion of CGG repeat in *Fmr1* gene leading to the loss of FMRP (fragile X mental retardation protein) expression. Among the wide range of associated abnormalities, inadequate responses to environmental stimuli are described and could explain self-injurious behavior related to 60% of FXS patients. Although these sensorial disturbing features could contribute to the cognitive deficits and affect social interactions, the cellular and molecular processes involved are still poorly understood.

To this purpose, our experiments using the *Fmr1* knockout mice model (*Fmr1* KO) focused on tactile sensitivity in chronic inflammatory conditions, induced by a unilateral paw administration of complete Freund's adjuvant (CFA). Following this injection, the tactile sensitivity was measured using Von Frey hairs and *Fmr1* KO mice displayed an excessive allodynia at least during 1 week. Since, accumulating evidences suggest that neuroinflammatory process is involved in the induction and maintenance of pain, the glial cells reactivity, the neuroinflammatory state and the metabolic activity were studied on the spinal cord.

Using RT-qPCR assays, our data demonstrate an exacerbated reactivity of glial cells, such as astrocytes and microglia, in *Fmr1* KO mice within both the dorsal horn of the spinal cord and in anterior cingulate cortex and primary somatosensory areas. Data also show an overexpression of the pro-inflammatory cytokine IL-6. The glial cells reactivity in the spinal cord, especially the astrocytes, is also observed by immunohistochemistry. To expand these results, the dorsal horn of the spinal cord was analyzed by Nuclear Magnetic Resonance (NMR). Our data highlight metabolic disturbances between *FMR1* WT and KO mice, related to astrocyte functions during chronic inflammation induced by CFA administration. Currently, using primary astrocytes culture, the astroglial responses to immune mediators/modulators are investigate. Our preliminary results show for the first time a perturbation of immune responses of *Fmr1* KO astrocytes especially after ATP stimulation.

All of these data highlight a glial cells reactivity disturbance leading to defects of the neuroinflammatory response and metabolic activity. Thus, our results show that the astrocyte function imbalance may contribute to nociceptive defect observed in FXS. Future studies must be conducted to define the specific molecular pathways affected by the absence of FMRP, especially in glial cells.

Key words: *Fragile-X Syndrome, Neuroinflammation, Astrocytes, Hypersensitivity*

Protein translation enhancement therapy for the treatment of neurodegenerative diseases

Kathia Zaleta-Rivera^{1,2} and Patrick Vourc'h^{2,3}

¹LE STUDIUM Loire Valley Institute for Advanced Studies, Orleans, France, ²UMR 1253, iBRAIN, Université de Tours, INSERM, ³CHU de Tours, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Tours, France.

Synaptic transmission is of critical importance for the neurons to communicate and, abnormalities are observed in neurodegenerative diseases, psychiatric disorders, and intellectual disability. Loss of the synaptic vesicle proteins is shared among these disorders and is being noted as one of the earliest hallmarks of neurodegenerative diseases. Therefore, novel therapeutics targeting synapses are fundamental to improve brain plasticity and maintain a healthy brain function. Here, we propose to normalize synaptic protein levels by targeting unstable synaptic mRNAs using antisense RNA enhancer molecules with the '*long-term goal*' of developing a therapy for patients with synaptic dysfunction, specifically in Alzheimer's Disease (AD) and Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). Our '*hypothesis*' is that stabilization of unstable synaptic mRNA's by antisense RNA molecules will be effective in enhancing and restore the levels of downregulated synaptic proteins in AD and ALS. As a '*proof of concept*' antisense RNA molecules targeting 5'UTR regions of unstable synaptic genes (synapsin and synaptophysin) fused to enhancer elements such as SINE and/or CSE replicase recognition sites were designed. To explore the efficacy and specificity, three different binding domains that span the 5'UTR region and transcription start sites (-40/+32, -40/+4, -14/+4) per gene were prepared and screened in a cell line that endogenously expresses the target genes. Our preliminary results show that SINE elements enhanced protein translation of the synapsin dimer by 80% and the monomers by 40%. This significant enhancement can stimulate synaptogenesis, synaptic vesicle recruitment, and maintain the mature synapses. An increase in synaptophysin was also observed. *Ex vivo* studies using a diseased cell model are in progress to assess phenotype and function. This is a promising step toward targeting synapses in neurodegenerative diseases.

Proteolytic homeostasis at the cutting edge of IBD: Focus on gastrointestinal inflammation

Moez Rhimi

INRAE, UMR1319 MICALIS, Jouy-en-Josas, France, AgroParisTech, UMR MICALIS, Jouy-en-Josas, France.

Inflammatory bowel diseases (IBD), including ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), are chronically relapsing diseases which constitute a worldwide problem with a high incidence. The current treatments are far efficient and limited data are available regarding their pathogenesis. Recently, it was demonstrated that IBD patients are characterized by alterations in immune response, a dysbiotic microbiota, disruption of intestinal barrier, and an increased protease activity. Substantial efforts have been made in developing new drugs, some of which have reached clinical trial phases, notwithstanding that unwanted side effects remain a major issue. However, studies on the proteolytic imbalance and inhibitors conception are directed toward host serine proteases revealing a hitherto overlooked factor, the potential contribution of their bacterial counterpart. In this lecture, we highlight the role of proteolytic imbalance in human digestive inflammation focusing on microbial serine proteases and their respective inhibitors encoded by the gut microbiota. Such results will guide further investigations to better understand the relevance of these proteases/inhibitors in IBD.

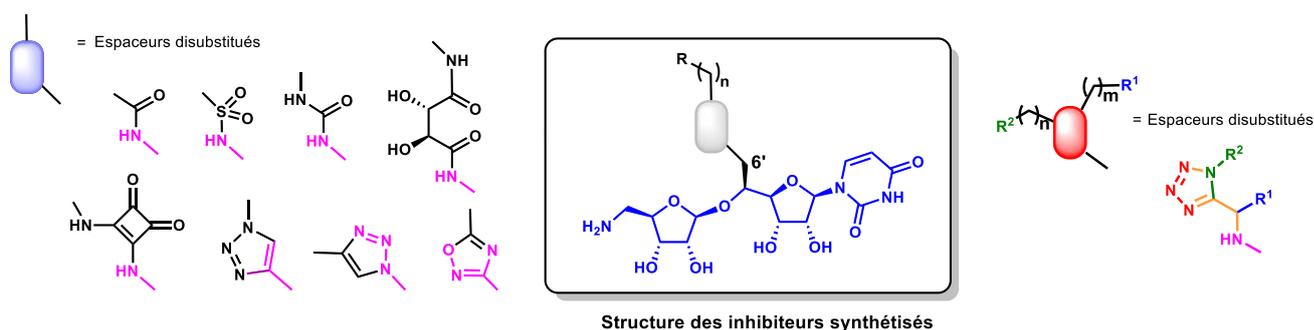
Inhibiteurs de la transférase bactérienne *MraY*, vers de nouveaux antibiotiques

Christine Gravier-Pelletier

Université de Paris, LCBPT, UMR 8601CNRS, 75006 Paris (France) christine.gravier-pelletier@u-paris.fr

Les maladies infectieuses sont l'une des principales causes de mortalité humaine dans le monde et la lutte contre l'émergence d'infections nosocomiales impliquant des souches bactériennes multirésistantes est classé par l'OMS parmi ses dix priorités de recherche. C'est pourquoi, il est primordial de développer de nouveaux antibiotiques actifs contre des cibles biologiques non encore exploitées afin de retarder l'émergence de résistance. Le peptidoglycane bactérien est un constituant essentiel de la paroi des bactéries et sa biosynthèse implique des enzymes démontrées ubiquitaires et essentielles pour la viabilité des bactéries et non ciblées par les antibiotiques sur le marché. Ces enzymes, telles que la transférase *MraY* qui catalyse la première étape membranaire de cette biosynthèse, représentent donc des cibles pertinentes pour le développement de nouveaux antibiotiques.

La présentation se concentrera sur la synthèse et l'évaluation biologique *in vitro* et *in cellulo* de plusieurs familles d'inhibiteurs de la transférase bactérienne *MraY* basés sur un squelette **aminoribosyl uridine**, important pour l'activité biologique. La synthèse, orientée vers la diversité, repose notamment sur des approches multi-composants. Les résultats des évaluations biologiques seront discutés et rationalisés par des études de modélisation moléculaire et de dynamique moléculaire.



Mots-clés : Antibiotiques nucléosidiques, CuAAC, Ugi-azide, évaluations biologiques, docking.

M. Fer *et al.* *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 7193-7222. M. Fer *et al.* *Curr. Med. Chem.* **2018**, *25*, 6013-6029.

M. Oliver *et al.* *Org. Biomol. Chem.* **2021**, *19*, 5844 – 5866

Intérêt de l'épigénétique pour les plantes dans le cadre du changement climatique

Stéphane MAURY

LBLGC EA1207 USC1328 INRAE Université Orléans, FRANCE

Des travaux majeurs sur des organismes modèles animaux et végétaux ont révélé le rôle fondamental des mécanismes épigénétiques dans le développement, la réponse à l'environnement, la plasticité phénotypique et l'hérédité trans-générationnelle. L'épigénétique peut se définir comme l'ensemble des modifications de la structure de la chromatine qui participe au contrôle de l'expression des gènes sans altération génétique et qui sont transmises par mitose et/ou méiose. De ce fait, l'épigénétique suscite un grand intérêt notamment en amélioration des plantes (Maury et al. 2014). Les plantes sont des organismes fixés, avec un développement continu, une absence de lignée germinale préétablie, des cycles de vie très variés allant jusqu'à des centaines d'années chez les arbres et une forte plasticité phénotypique en réponse aux variations de leur environnement. Elles constituent ainsi des modèles biologiques pertinents mais également la base des écosystèmes et de l'agriculture ce qui justifie d'étudier le rôle des mécanismes épigénétiques et leur exploitation en amélioration végétale. En effet, la diversité épigénétique naturelle ou induite par différents moyens est un enjeu prometteur pour les améliorateurs ainsi que l'exploitation de l'épigénétique comme biomarqueurs (Amaral et al. 2020; Kakoulidou et al. *in prep*). C'est dans ce contexte, que nous développons depuis 15 ans (<http://www.univ-orleans.fr/lblgc/arche>) dans le cadre d'un réseau de collaboration international (académique et partenaires privés) des études sur le rôle de l'épigénétique chez diverses plantes. Nous présenterons une approche intégrative allant de l'écophysiologie, la biochimie, la génétique à l'(épi)génomique sur des dispositifs expérimentaux variés en serre, pépinière ou plantations. Nos résultats majeurs supportent un rôle de la méthylation de l'ADN comme une source de flexibilité associée à la plasticité phénotypique et à la mémoire environnementale des plantes et priming (Hébrard et al. 2016; Lafon-Placette et al. 2018; Le Gac et al. 2018 et 2019; Marin et al. 2019; Sow et al. 2018 et 2021; Maury et al. 2019; Dugé de Bernonville et al. 2020 et 2021) notamment avec le projet ANR EPITREE 2018-2022 (ANR-17-CE32-0009-01). Des pistes d'applications en amélioration des plantes cultivées seront présentées.

Le comportement de body-shaking produit des vibrations complexes chez les termites souterrains.

Louis PAILLER, Samuel DESVIGNES, Fanny RUHLAND, Miguel PINEIRUA, Christophe LUCAS

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte – UMR 7261 – Université de Tours.

Les comportements vibratoires sont communs chez les insectes, et sont particulièrement efficaces dans les environnements fermés. Chez les termites, différents comportements vibratoires sont utilisés comme signaux d'alarme ou en présence de reproducteurs, mais les vibrations produites par ces comportements restent encore inexplorées. Nos travaux montrent qu'il existe plusieurs types de vibrations produites par le comportement vibratoire body-shaking, qui peuvent non seulement être transmises à travers le substrat, mais aussi détectées par les autres membres de la colonie. Nous avons analysé les structures des vibrations émises et l'occurrence des body-shaking en présence/absence de reproducteurs et/ou en présence/absence de stimuli de stress (flash lumineux) chez le termite souterrain *Reticulitermes flavipes*. Étonnamment, la structure des vibrations émises est influencée par la présence des reproducteurs, et seulement celle-ci. De plus, la première partie des vibrations semble suffire à coder des informations sociales puisqu'elle seule est affectée, mais d'autres parties pourraient contenir d'autres types d'informations. L'occurrence des body-shaking augmente en présence de reproducteurs, mais seulement brièvement en présence du flash lumineux. Ces résultats montrent que les signaux vibratoires sont complexes chez les termites et que la diversité des vibrations émises pourrait encoder une pluralité d'informations liées aux facteurs environnementaux et sociaux.

Modulation de l'expression du récepteur néonatal à la portion Fc des IgG (FcRn) durant la différenciation des monocytes en macrophages

Juliette LAMAMY, Shawk KARIM, Julie MARIOT, Christine DHOMMEE, Véronique DEMATTEI, Valérie GOUILLEUX-GRUART
GICC, EA 7501 - ERL 7001- Equipe FRAME Tours

Le récepteur néonatal à la portion Fc des IgG (FcRn) est un récepteur intracellulaire exprimé de façon ubiquitaire dans de nombreuses cellules comme les cellules épithéliales, endothéliales ou les cellules hématopoïétiques. Outre son rôle dans le recyclage et la transcytose des IgG, le FcRn participe aux fonctions immunitaires innées et adaptatives telles que la phagocytose, la présentation (croisée) d'antigène ou encore l'élimination des complexes immuns. Plus récemment, des études ont montré que la down régulation du FcRn, dans les tissus cancéreux était associée à un mauvais pronostic chez les patients. A l'heure actuelle, deux mécanismes intervenant dans la régulation de l'expression de FcRn ont été décrits : la présence d'un polymorphisme de répétition (VNTR) au niveau du promoteur du gène FCGRT codant pour le FcRn et l'environnement cytokinique. Les cytokines sont des facteurs solubles possédant un rôle central dans la régulation de la réponse immunitaire. Elles participent à la différenciation et à l'activation cellulaire et sont souvent impliquées dans les processus inflammatoires et dans le cancer notamment lors du développement tumoral et de son microenvironnement. Parmi les cellules hématopoïétiques infiltrant les tumeurs, les macrophages sont décrits pour se différencier, sous l'action de cytokines, en cellules pro- ou anti-tumorales. Les différents sous-types de macrophages sont caractérisés par des marqueurs exprimés à leur surface et par leur profil de sécrétion en cytokines qui leur confèrent une activité fonctionnelle différentielle dans les processus cancéreux ou inflammatoires. Ces sous-types de macrophages peuvent être obtenus *in vitro* à l'aide des cytokines telles que le GM-CSF pour les sous-types M1/ pro-inflammatoires ou avec le M-CSF pour les macrophages M2/ anti-inflammatoires.

Nous avons étudié l'expression de FcRn durant la différenciation de monocytes issus de donneurs sains, en macrophages de sous-type M1 (induits par le GM-CSF) et M2 (induits par le M-CSF). Les résultats ont montré une expression plus importante du FcRn chez les macrophages M1 par rapport aux macrophages M2. Afin d'évaluer l'implication des cytokines dans la modulation de l'expression du FcRn, des cytokines anti- (IL-10) et pro-inflammatoires (IL-17a, IL-6) ont été ajoutées en cours de différenciation des macrophages M1/M2. Les résultats ont révélé une action des cytokines sur la modulation de l'expression de FcRn, uniquement chez les macrophages de sous-type M2. Ces résultats ont également révélé que la modulation de l'expression du FcRn par les cytokines était indépendante de la modification des phénotypes des macrophages M1 et M2. De plus, les études fonctionnelles de phagocytose ont permis de montrer que l'augmentation de l'expression de FcRn chez les macrophages par l'IL-10 était en relation avec une augmentation du score de phagocytose. Pour conclure, ces résultats montrent une expression différentielle du FcRn chez les macrophages en fonction de l'environnement cytokinique. Une étude de la régulation transcriptionnelle associée au M et GM-CSF pourrait permettre d'identifier de nouveaux facteurs intervenant dans la modulation de l'expression du FcRn.

Mots-clés : Récepteur néonatal Fc (FcRn), monocytes, macrophages, modulation, cytokines

Analyse de peptides à visée pharmaceutiques par chromatographie unifiée couplée à la spectrométrie de masse

Molineau J.⁽¹⁾, Hamel Y.⁽¹⁾, Hideux M.⁽²⁾, Mauge F.⁽²⁾, Bertin S.⁽²⁾, Hennig P.⁽²⁾, Lesellier E.⁽¹⁾, West C.⁽¹⁾

(1): Institut de Chimie Organique. Université d'Orléans

(2) : Institut de Recherche Servier, 11 rue des Moulineaux, 92150, Suresnes, France

Pour assurer la sécurité des patients, il est du devoir de la chimie analytique d'identifier et de quantifier les impuretés présentes dans les produits actifs de synthèse ou produits finis. Pour cela, les techniques chromatographiques associées à la spectrométrie de masse sont des méthodes de référence. Nos travaux se focalisent sur les biomolécules actives et plus spécifiquement les peptides. Ces peptides sont des oligomères ou polymères d'acides aminés. Ils peuvent être naturels ou synthétiques, linéaires ou cycliques et peuvent avoir des activités biologiques variées pour des effets tels qu'antidiabétique, anticancéreux, antimicrobiens ...

Dans cette perspective, la chromatographie Unifiée (UC) apparait comme la technique séparative adaptée à l'analyse de peptides. L'UC opère avec du CO₂ pressurisé associé à un solvant liquide dans des proportions variant de 0 à 100%. Le terme « unifié » provient de l'addition de 3 différents modes chromatographiques à la suite au travers d'une seule expérience : la chromatographie en phase supercritique (SFC), la chromatographie liquide à fluidité améliorée (EFLC) et la chromatographie liquide (LC). Cette combinaison s'adapte parfaitement à la grande diversité de nos échantillons de peptides. L'association avec la spectrométrie de masse (MS) est essentielle pour l'identification des molécules. Son fonctionnement est basé sur la détection des molécules par leur ratio masse sur charge.

Cette discussion se concentre sur les petits peptides (< 1 000 Da) analysés par UC-MS et expose les difficultés rencontrées lors de l'analyse de biomolécules.

Les bactériophages en 2021 : propriétés et utilisations en thérapie

Docteur Alain DUBLANCHET, Praticien Honoraire des Hôpitaux
Médecin Microbiologiste, ancien chef de service au CH de Villeneuve St Georges

Les bactériophages (phages) sont des virus particuliers qui ne reconnaissent que des bactéries avec lesquelles ils entretiennent des rapports symbiotiques co-évolutifs. Certains phages (lytiques) sont capables de détruire les bactéries et ce pouvoir n'est pas affecté par la résistance aux antibiotiques qui représente aujourd'hui un défi médical majeur.

Découverts en 1917, les phages ont été utilisés dès 1919 pour traiter (phagothérapie) des infections bactériennes variées, puis ils ont été progressivement écartés par les thérapeutes au profit des antibiotiques disponibles de plus en plus nombreux. Dans les pays occidentaux les phages n'ont dès lors été utilisés que comme objets et outils par les laboratoires de recherche dans lesquels ils ont largement contribué au développement et à l'essor de la biologie moléculaire. En retour et, dans un contexte de résistance croissante aux antibiotiques des bactéries, des découvertes concernant les propriétés nouvelles des phages ont fait l'objet de publications très nombreuses justifiant une nouvelle expertise dans leur utilisation médicale. Face à la pénurie de moyens capables de répondre à la menace d'un retour à la période pré-antibiotique, les propositions d'utiliser ces entités virales particulières sont, depuis une vingtaine d'années, envisagées comme un recours crédible. Cependant, aujourd'hui, le principal défi de ce traitement centenaire est de répondre aux contraintes réglementaires strictes qui régissent la mise à disposition des produits pharmaceutiques. Car les spécificités des phages, différentes de celles des médicaments chimiques, nécessitent une adaptation de la réglementation.

Dans cet exposé après avoir fait le point sur les connaissances récentes et rappelé le principe d'un traitement utilisant des phages, nous aborderons les conditions actuelles de leur place en médecine en soulignant avantages et inconvénients. Des exemples d'essais récents de réintroduction de la phagothérapie seront présentés pour illustrer les indications dans lesquelles des situations d'impasses thérapeutiques peuvent bénéficier du renouveau de cette thérapeutique encore très négligée et souvent mal perçue. Soulignons encore que cette approche n'est pas adaptée à la production par l'industrie pharmaceutique et appelle d'urgence une nouvelle réglementation spécifique. Car, selon nous, la phagothérapie devrait être envisagée comme un « service écosystémique » auquel les phages « médicaments » peuvent prétendre appartenir comme acteurs d'une « médecine de précision » au sein du concept « une seule santé ».

Mots clés : infection bactérienne ; résistance aux antibiotiques ; bactériophages ; phagothérapie.

Vésicules extracellulaires: caractéristiques, fonctions et applications

Eric Guédon

INRAE, Institut Agro, STLO, Rennes, France

La production de vésicules extracellulaires (EVs) est désormais reconnue comme un phénomène omniprésent dans les trois branches du vivant et constituant une voie de sécrétion impliquée dans la communication intercellulaire. Les EVs sont des particules biologiques sphériques de taille nanométrique et composées d'une bicouche lipidique. Elles sont produites par la plupart des cellules (procaryotes, eucaryotes), principalement à partir du bourgeonnement de la membrane, et sécrétées dans le milieu environnant. Elles jouent un rôle essentiel dans la communication entre les cellules (intra- et inter-espèce) et dans la vectorisation des propriétés biologiques des cellules, de par leur capacité à transporter des molécules bioactives (protéines, acides nucléiques, lipides, enzymes, toxines, métabolites) d'une cellule productrice à une cellule receveuse. Ces médiateurs de la communication agissent par transfert de leur contenu dans les cellules cibles ou par une interaction spécifique entre des ligands présents à leur surface et des récepteurs exprimés par les cellules cibles. La production de ces vecteurs d'information a été démontrée chez de nombreuses bactéries, y compris des bactéries pathogènes, probiotiques et commensales et peuvent avoir des rôles dans la pathogenèse, l'homéostasie du microbiote, la survie bactérienne, le transfert de gènes et la modulation de la cellule hôte. Les recherches sur les EVs sont en plein essor depuis quelques années, en raison notamment de leur rôle crucial dans de nombreux processus biologiques et de leur fort potentiel d'innovation dans le secteur médical et biotechnologique (biomarqueurs pour du diagnostic/pronostic, vecteur de livraison...). Un aperçu des caractéristiques, des fonctionnalités et des applications potentielles des vésicules extracellulaires, en mettant l'accent sur les EVs produites par des bactéries à Gram positif, sera présenté lors de cette présentation.

ANCHOR™ tagged autofluorescent viruses for antiviral discovery and high resolution imaging in living cells

Franck Gallardo, Ph.D

NeoVirTech SAS, Toulouse, France

As intracellular parasites, viruses use cellular machinery to achieve their own replication. Therefore, targeting viral infection process without altering cellular function is one of the main challenge for the development of new antiviral molecules. To date, antiviral screening technologies were mainly target-based, and phenotypic screening using viruses where infection and replication can be followed directly in living cells has not been achieved due to technical limitations. We have developed a new visualization techniques called ANCHOR™ that allows us for the first time to visualize directly in real time in living cells infection, localization, replication and cell-to-cell spread of any kind of viruses having a dsDNA phase in their replication cycle. This technology has been successfully used to image different kind of viruses, including herpes virus, adenovirus, poxvirus and lentivirus for example.

Combined with high content screening microscopes, the ANCHOR™ technology allows scoring of infection efficiency from cell population to single cells in the presence of a compound of interest in high throughput. Antiviral activity can then be observed in living cells using high resolution microscopes. Several examples of fluorescent viruses will be presented, virus can be either pathogens in the human and animal health market, oncolytic vectors, vaccine or gene therapy vectors. Our innovative technology, combining autofluorescent detection and automatic imaging, paves the way for rapid and efficient next generation antiviral screening.

Le rôle du microclimat dans la réponse des insectes au changement climatique

Sylvain Pincebourde

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

Le changement climatique exerce une pression importante sur les populations d'insectes. Notre capacité à prédire où et quand l'environnement présente(ra) un risque thermique pour les insectes devient un élément central des enjeux de biologie de la conservation. La limite thermique des insectes est souvent utilisée comme indicateur de vulnérabilité au réchauffement. Toutefois, notre compréhension de la variabilité de ce trait de biologie thermique entre différentes espèces dans un même habitat nominal reste limitée. Nos études démontrent que les conditions microclimatiques à une échelle spatiale particulièrement fine permettent d'expliquer la variabilité inter-spécifique de la tolérance à la température. Nous avons étudié une communauté d'arthropodes vivant à la surface des feuilles d'arbre, en mesurant simultanément leur limite thermique et la température du microclimat foliaire lorsque ces espèces attaquent le végétal. L'effet de leur activité de nourrissage sur le taux de transpiration de la feuille et donc la température foliaire explique la variabilité du seuil de tolérance à la température. Ce type d'approche microclimatique permet d'évaluer la vulnérabilité de ces espèces au réchauffement avec une précision jamais égalée. Une approche d'écologie biophysique permet en particulier de quantifier l'erreur dans l'estimation de la tolérance au réchauffement lorsque ces conditions microclimatiques ne sont pas considérées. De façon générale, la marge de sécurité des insectes est plus mince que prévu par des approches classiques.

Mots-clés :

Microclimat ; écologie thermique ; écologie biophysique ; changement climatique ; entomologie.

Pitches

(Numérotation par filière et par ordre alphabétique)

Filière A

1- Impact of human cathepsin S upregulation on the integrity of epithelial barriers in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)

Paul Bigot, Simon Chesseron, Damien Sizaret, Ahlame Saidi, Fabien Lecaille, Gilles Lalmanach

Poster PA1

2- Etude la réponse immuno-inflammatoire après l'infarctus du myocarde et de son implication dans le remodelage fibreux dans un modèle in vitro

Elodie Miguelestorena-Standley, Ana Valeria Vinhais da Silva, Stéphanie Chadet, Audrey Héraud, Roxane Lemoine, Fabrice Ivanès, Denis Angoulvant

Poster PA3

3- Utilisation de Solvants Eutectiques Profonds Naturels (NaDES) pour la bioraffinerie de microalgues en cosmétique : focus sur les acides gras libres

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

Poster PA4

Filière B

4- Vaccin nanoparticulaire contre la toxoplasmose de la faune sauvage en captivité

Pauline Cantin, Nathalie Moiré, Céline Ducournau, Didier Betbeder, Isabelle Dimier-Poisson

Poster PB6

5- Développement d'un modèle animal de pneumocystose

A.Chesnay, T. Baranek, G. Desoubieux

Poster PB7

6- EZH2, une cible thérapeutique pour le carcinome à cellules de Merkel

Marie-Alice Durand, Alice Mouchard, Clara Esnault, Patricia Berthon, Mahtab Samimi, Antoine Touzé, Thibault Kervarrec

Poster PB8

7- Impact du microbiote intestinal et de ses métabolites sur le développement et la maturation du système immunitaire inné périphérique chez le poulet

Vincent Saint-Martin, Vanaique Guillory, Sascha Trapp, Pascale Quéré, Rodrigo Guabiraba

Poster PB12

Filière C

8- Conception rationnelle de S-Glycosyltransférases issues d'Arabidopsis thaliana à façon: de la modélisation aux applications thérapeutiques et cosmétiques

Damien Bretagne, Richard Daniellou, Pierre Lafite

Poster PC13

9- Design et synthèse de Conjugués Anticorps-Fluorophores (AFC) proche infrarouge comme agents d'imagerie médicale pour le cancer du sein.

Thibault Brisker, Marie-Aude Hiebel, Stéphane Petoud, Svetlana Eliseeva, Franck Suzenet, Nicolas Joubert
Poster PC14

10- Développement de nouveaux modulateurs du canal SK3 pour prévenir de l'apparition de métastases

K. Brugemann, F. Buron, A. Chantôme, M. Potier-Cartereau, S. Routier et C. Vandier
Poster PC15

11- Effets directs et indirects des strates vasculaires et des bryophytes sur la régénération forestière

Laura Chevaux, Yann Dumas, Marion Gosselin, Fabien Laroche, Anders Marell, Philippe Balandier
Poster PC18

12- Analyse de triglycérides d'échantillons lipidiques végétaux par chromatographie en fluide supercritique couplée à la spectrométrie de masse (SFC-MS)

Quentin Gros, Marta Wolniaczyk, Caroline West, Eric Lesellier
Poster PC23

13- Protein-Ligand binding affinity prediction using combined molecular dynamics and deep learning approaches

Libouban, PY. , Aci-Sèche, S. , Tresadern, G. , Bonnet, P.
Poster PC24

14- Environmental toxicants induces neuroinflammation in neural stem cell cultures

Méresse S., de Concini V., Larrigaldie V., Mortaud S.
Poster PC28

15- La spectrométrie infra-rouge un outil puissant pour évaluer la qualité des graines forestières en regard de leurs réserves.

Parisa Savane, Armelle Delile, Nathalie Boizot, Nassim Belmokhtar, Céline Ridet, Marie-Anne Lelu-Walter, Caroline Teyssier
Poster PC31

16- The enzymatically induced lossen rearrangement as a bioconjugation and labeling tool

Tomaš J. , Schuler M. , Tatibouët A
Poster PC32

17- Lectin array for quality control of recombinant therapeutic glycoproteins

Vittoria Federica Vena – Benoît Roubinet – Ludovic Landemarre
Poster PC34

18- Large intact biomolecular assembly analysis by NALIM (Native liquid MALDI MS) shows non-covalent Lc binding in mouse IgA

Edison Zhamungui, Martine Beaufour, Martine Cadene
Poster PC36

Filière D

19- Le FGF21 : Une hormone du métabolisme impliquée dans la reproduction chez l'Homme ?

Bourdon Guillaume, Estienne Anthony, Chevaleyre Claire, Rame Christelle, Guérif Fabrice, Brun Jean-Sebastien, Vasseur Claudine, Fromont Gaele, Ingrid Plotton, Dufour Diane, Erika Caldas-Silveira, Dupont Joëlle, Froment Pascal and Ducluzeau Pierre-Henri

Poster PD38

20- Phénomènes physico-chimiques dans le transport atmosphérique des phéromones

Ludovic Jami, Thomas Zemb, Jean-François Dufrêche, Jérôme Casas

Poster PD42

21- Analyse comparative de la performance de la thermogénèse et des odeurs chez deux espèces d'Arum sympatriques

Mathieu LECLERC, Marc GIBERNAU, Elfie PERDEREAU, Sylvain PINCEBOURDE

Poster PD43

22- Impact d'un herbicide à base de glyphosate sur les fonctions des cellules de la granulosa humaine

Loïse Serra, Aikaterini Kallianioti, Anthony Estienne, Christelle Ramé, Claire Chevaleyre, Fabrice Guérif, Pascal Froment, Joëlle Dupont

Poster PD44

23- Le bisphénol S perturbe la stéroïdogénèse des cellules de granulosa humaines et ovines

Ophélie Têteau, Sarah Amar, Manon Jaubert, Aurélien Binet, Alice Desmarchais, Pascal Papillier, Claire Vignault, Virginie Maillard, Fabrice Guérif, Sébastien Elis

Poster PD45

Filière E

24- Coopération entre les anticorps de thrombopénie induite par l'héparine : impact sur l'activation cellulaire et le risque thrombotique

Sandra Billy et Jérôme Rollin

Poster PE46

25- Conception de radiopharmaceutique TEP fluorés ciblant AhR : Application en oncologie et neuropsychiatrie

Simon Garnier, Patrick Emond, Sylvie Chalon, Sylvain Routier, Johnny Vercouillie and Frédéric Buron

Poster PE48

26- Membrane de peau synthétique Strat-MTM et tests de pénétration

Hichem Kichou, Yuri Dancik, Martin Soucé, Xavier Perse, Igor Chourpa, Emilie Munnier, Franck Bonnier

Poster PE50

27- Design and synthesis of nanoprobe for miRNA targeting using streptavidin-biotin interactions

Iveta Vilímová, Igor Chourpa, Katel Hervé-Aubert

Poster PE54

Posters

(Numérotation par filière et par ordre alphabétique)

Filière A

PA1 et Pitch 1- Impact of human cathepsin S upregulation on the integrity of epithelial barriers in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)

Paul Bigot, Simon Chesseron, Damien Sizaret, Ahlame Saidi, Fabien Lecaille, Gilles Lalmanach

PA2- Cathepsin C-independent maturation of granzyme zymogens in cytotoxic lymphocytes

Roxane Domain, Thomas Baranek, Christophe Paget, Brice Korkmaz

PA3 et Pitch 2- Etude la réponse immuno-inflammatoire après l'infarctus du myocarde et de son implication dans le remodelage fibreux dans un modèle in vitro

Elodie Miguelestorena-Standley, Ana Valeria Vinhais da Silva, Stéphanie Chadet, Audrey Héraud, Roxane Lemoine, Fabrice Ivanès, Denis Angoulvant

PA4 et Pitch 3- Utilisation de Solvants Eutectiques Profonds Naturels (NaDES) pour la bioraffinerie de microalgues en cosmétique : focus sur les acides gras libres

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

Filière B

PB5- Activation mechanisms and functions of MAIT cells during pneumococcal infection

Emilie BARSAC, Antoine HANKARD, Loïc GONZALEZ, Mégane FERNANDEZ, Alizée MEREAU, Vikrant MINHAS, Jan-Willem VEENING, Mustapha SI-TAHAR, Thomas BARANEK, Christophe PAGET

PB6 et Pitch 4- Vaccin nanoparticulaire contre la toxoplasmose de la faune sauvage en captivité

Pauline Cantin, Nathalie Moiré, Céline Ducournau, Didier Betbeder, Isabelle Dimier-Poisson

PB7 et Pitch 5- Développement d'un modèle animal de pneumocystose

A.Chesnay, T. Baranek, G. Desoubreaux

PB8 et Pitch 6- EZH2, une cible thérapeutique pour le carcinome à cellules de Merkel

Marie-Alice Durand, Alice Mouchard, Clara Esnault, Patricia Berthon, Mahtab Samimi, Antoine Touzé, Thibault Kervarrec

PB9- Une nouvelle approche thérapeutique ciblant le CD56 dans le carcinome à cellules de Merkel

Clara Esnault, Valérie Leblond, Camille Martin, Audrey Desgranges, Christine B. Baltus, Nicolas Aubrey, Zineb Lakhrif, Laurie Lajoie, Louis Lantier, Roland Houben, David Schrama, Yang Feng, Serge Guyétant, Patricia Berthon, Marie Claude Viaud-Massuard, Mahtab Samimi, Antoine Touzé, Thibault Kervarrec

PB10- Développement d'anticorps armés originaux dans le traitement des cancers du sein

Louis Jolivet, Fanny Boursin, Nicolas Joubert, Emilie Allard-Vannier, Anne Poupon, Nicolas Aubrey

PB11- Détermination du régulon de CcpA, un régulateur pléiotropique chez le pathogène *Streptococcus agalactiae*

Anne-Emmanuelle Roux, Laurent Mereghetti, Emilie Camiade

PB12 et Pitch 7- Impact du microbiote intestinal et de ses métabolites sur le développement et la maturation du système immunitaire inné périphérique chez le poulet

Vincent Saint-Martin, Vanaique Guillory, Sascha Trapp, Pascale Quéré, Rodrigo Guabiraba

Filière C

PC13 et Pitch 8- Conception rationnelle de S-Glycosyltransférases issues d'*Arabidopsis thaliana* à façon: de la modélisation aux applications thérapeutiques et cosmétiques

Damien Bretagne, Richard Daniellou, Pierre Lafite

PC14 et Pitch 9- Design et synthèse de Conjugués Anticorps-Fluorophores (AFC) proche infrarouge comme agents d'imagerie médicale pour le cancer du sein.

Thibault Brisker, Marie-Aude Hiebel, Stéphane Petoud, Svetlana Eliseeva, Franck Suzenet, Nicolas Joubert

PC15 et Pitch 10- Développement de nouveaux modulateurs du canal SK3 pour prévenir de l'apparition de métastases

K. Brugemann, F. Buron, A. Chantôme, M. Potier-Cartereau, S. Routier et C. Vandier

PC16- Biomass extraction and functionalization using flow chemistry technology

Flore CARE, Stéphane BOSTYN, Sylvain ROUTIER, Frédéric BURON, Pierre LAFITE

PC17- Intérêt des outils miniaturisés pour l'étude des LIM kinases

Solweig CHARTIER, Béatrice VALLEE, Muriel SEBBAN, Gaël COADOU, Bérengère CLAUDE, Reine NEHME

PC18 et Pitch11- Effets directs et indirects des strates vasculaires et des bryophytes sur la régénération forestière

Laura Chevaux, Yann Dumas, Marion Gosselin, Fabien Laroche, Anders Marell, Philippe Balandier

PC19 - La formation d'aspartimide, une réaction parasite sous-estimée lors de la synthèse de protéines. Conception d'une stratégie pour y remédier.

El hadji CISSE, Vincent AUCAGNE

PC20- Messenger RNA Transfection of Dendritic cells with Mannosylated Lipopolyplexes: Impact of the Surface Charge on the Binding, Uptake, and mRNA Expression.

Christophe Delehedde, Haifei Gao, Ivan Ciganek, Cristine Gonçalves, Virginie Malard, Nathalie Rameix, Luc Even, Patrick Midoux and Chantal Pichon

PC21- Synthèse de disaccharides iminosucre-sucre, nouveaux inhibiteurs de glycosidases

Floquet Rémi, Gallienne Estelle, Lopin-Bon Chrystel

PC22- Synthesis of C6-alkynyl-2,4-quinazolinedione-N-1-ribonucleoside phosphoramidates targeting the inhibition of SARS-CoV-2

Milène Franzetti, El Hadji Cisse, Nicolas Biteau, Gaëlle Frenois-Veyrat, Marc Grandadam, Frédéric Iseni, Vincent Roy, and Luigi A. Agrofoglio

PC23 et Pitch 12- Analyse de triglycérides d'échantillons lipidiques végétaux par chromatographie en fluide supercritique couplée à la spectrométrie de masse (SFC-MS)

Quentin Gros, Marta Wolniaczyk, Caroline West, Eric Lesellier

PC24 et Pitch 13- Protein-Ligand binding affinity prediction using combined molecular dynamics and deep learning approaches

Libouban, PY. , Aci-Sèche, S. , Tresadern, G. , Bonnet, P.

PC25- Synthesis of cyclic dinucleotides as modulators of STING, a pivotal protein in immunity and diseases

Jérémy Magand, Andrea Carolina Ojeda-Porras, Stéphanie Rose, Valérie Quesniaux, Vincent Roy, and Luigi A. Agrofoglio

PC26- Développement d'une méthode analytique LC-UV pour un nouvel acyclonucléoside phosphonate antiviral

Thomas Mathieu, Yassin El Koulali, Patrick Favetta, Vincent Roy et Luigi A. Agrofoglio

PC27- Contribution aux techniques d'apprentissage automatique pour le diagnostic de la gonarthrose

Tinhinane Mehdi, Soraya Aloui, Eric Lespessaille, Rachid Jennane

PC28 et Pitch 14- Environmental toxicants induces neuroinflammation in neural stem cell cultures

Méresse S., de Concini V., Larrigaldie V., Mortaud S.

PC29- Airway STING priming induced PANoptosis and secondary DNA-mediated, cGAS independent lung inflammation.

Yasmine Messaoud-Nacer, Elodie Culerier, Stéphanie Rose, Isabelle Maillet, Nathalie Rouxel, Sylain Briault, Bernhard Ryffel, Valerie F. J. Quesniaux, and Dieudonnée Togbe

PC30 - Nouvelles perspectives en catalyse asymétrique pour la synthèse de nitriles chiraux et son application vers des composés bioactifs

Liliane Mimoun ; Cyril Nicolas ; Isabelle Gillaizeau

PC31 et Pitch15- La spectrométrie infra-rouge un outil puissant pour évaluer la qualité des graines forestières en regard de leurs réserves.

Parisa Savane, Armelle Delile, Nathalie Boizot, Nassim Belmokhtar, Céline Ridel, Marie-Anne Lelu-Walter, Caroline Teyssier

PC32 et Pitch16- The enzymatically induced lossen rearrangement as a bioconjugation and labeling tool

Tomaš J. , Schuler M. , Tatibouët A

PC33- Vers la synthèse d'alcaloïdes mono-indoliques à activité anti-tumorale

Torun, Damla ; Tiger, Killian ; Lobo, Alexandre ; Gillaizeau, Isabelle

PC34 et Pitch17- Lectin array for quality control of recombinant therapeutic glycoproteins

Vittoria Federica Vena – Benoît Roubinet – Ludovic Landemarre

PC35- Remaniement du cytosquelette d'actine via la voie de signalisation Rho/ROCK/LIMK2/cofiline : mise en évidence d'un nouveau mécanisme de régulation de la cofiline par LIMK2

E. Villalonga, C. Chalal, D. Cassas, M. Doudeau, F. Godin, H. Bénédicti, B. Vallée

PC36 et Pitch 18- Large intact biomolecular assembly analysis by NALIM (Native liquid MALDI MS) shows non-covalent Lc binding in mouse IgA

Edison Zhamunqui, Martine Beaufour, Martine Cadene

Filière D

PD37 - La chémérine : un marqueur de la qualité du développement embryonnaire et un potentiel critère de sélection génétique chez les oiseaux

Ophélie Bernardi, Maxime Reverchon, Christelle Ramé, Joëlle Dupont

PD38 et Pitch 19- Le FGF21 : Une hormone du métabolisme impliquée dans la reproduction chez l'Homme ?

Bourdon Guillaume, Estienne Anthony, Chevalyère Claire, Rame Christelle, Guérif Fabrice, Brun Jean-Sebastien, Vasseur Claudine, Fromont Gaele, Ingrid Plotton, Dufour Diane, Erika Caldas-Silveira, Dupont Joëlle, Froment Pascal and Ducluzeau Pierre-Henri

PD39- Fibronectin type III domain-containing (FNDCs) : Facteurs clés dans le métabolisme énergétique et les fonctions ovariennes chez la vache laitière ?

Daudon Mathilde, Ramé Christelle, Dupont Joëlle, Price Christopher A.

PD40- Si ce n'est pas ici, c'est là-bas : La poule domestique est capable de raisonner par exclusion dans un contexte de recherche alimentaire

Rachel Degrande, Fabien Cornilleau, Léa Lansade, Ludovic Calandreau

PD41- La signature chimique du nid du frelon asiatique *Vespa velutina nigrithorax*

Page 33 sur 110

Haouzi Mélissa, Gévar Jérémy, Khalil Alix et Darrouzet Éric

PD42 et Pitch 20- Phénomènes physico-chimiques dans le transport atmosphérique des phéromones

Ludovic Jami, Thomas Zemb, Jean-François Dufrêche, Jérôme Casas

PD43 et Pitch 21- Analyse comparative de la performance de la thermogénèse et des odeurs chez deux espèces d'Arum sympatriques

Mathieu LECLERC, Marc GIBERNAU, Elfie PERDEREAU, Sylvain PINCEBOURDE

PD44 et Pitch 22- Impact d'un herbicide à base de glyphosate sur les fonctions des cellules de la granulosa humaine

Loïse Serra, Aikaterini Kallianioti, Anthony Estienne, Christelle Ramé, Claire Chevaleyre, Fabrice Guérif, Pascal Froment, Joëlle Dupont

PD45 et Pitch 23- Le bisphénol S perturbe la stéroïdogénèse des cellules de granulosa humaines et ovines

Ophélie Têteau, Sarah Amar, Manon Jaubert, Aurélien Binet, Alice Desmarchais, Pascal Papillier, Claire Vignault, Virginie Maillard, Fabrice Guérif, Sébastien Elis

Filière E

PE46 et Pitch 24- Coopération entre les anticorps de thrombopénie induite par l'héparine : impact sur l'activation cellulaire et le risque thrombotique

Sandra Billy et Jérôme Rollin

PE47- Réponse immunitaire sous immunothérapie dans le cancer pulmonaire non à petites cellules métastatique : étude d'expectorations et de prélèvements sanguins

M. Ferreira, T. Secher, N. Heuze-Vourc'h

PE48 et Pitch 25- Conception de radiopharmaceutique TEP fluorés ciblant AhR : Application en oncologie et neuropsychiatrie

Simon Garnier, Patrick Emond, Sylvie Chalon, Sylvain Routier, Johnny Vercouillie and Frédéric Buron

PE49- Optimization of Transcranial Focused Ultrasound (US) in the Case of an Animal Model of Autism Spectrum Disorder: Study of US Effect and Safety

Zahraa JISHI, Khawla OLLEIK, Yassine MOFID, Mohamad NASSEREDINE, Jamal CHARARA, Alexandre SURGET, Ayache BOUAKAZ

PE50 et Pitch 26- Membrane de peau synthétique Strat-MTM et tests de pénétration

Hichem Kichou, Yuri Dancik, Martin Soucé, Xavier Perse, Igor Chourpa, Emilie Munnier, Franck Bonnier

PE51- Target-mediated pharmacokinetics of cetuximab: target occupancy influences progression-free survival

Sarah LOBET, Gilles PAINTAUD, Nicolas AZZOPARDI, Christophe PASSOT, Morgane CAULET, Romain CHAUTARD, Celine DESVIGNES, Olivier CAPITAIN, David TOUGERON, Michelle BOISDRON, Thierry LECOMTE, David TERNANT

PE52- Effet vaccine-like associé à un traitement par anticorps thérapeutique inhalé lors d'une infection à *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*)

Aubin PITIOT, Thomas SECHER, Mélanie CORTES, Chloé BOISSEAU, Nathalie HEUZE-VOURC'H

PE53- Contrôle analytique des mAbs en solution par spectroscopie Raman

Ayyoub Rayyad, Franck Bonnier, Victor Massot, Igor Chourpa

PE54 et Pitch 27- Design and synthesis of nanoprobes for miRNA targeting using streptavidin-biotin interactions

Iveta Vilímová, Igor Chourpa, Katel Hervé-Aubert

Posters de participants hors filière

P55- Imagerie Multimodale 3D de l'ovaire de brebis : Rêve ou Réalité ?

Hans Adriaensen, Valerie Labas, Ines Castilla, Emilie Maugrion, Audrey Clausell, Saida Ibntaleb, Ana-Paula Teixeira-Gomes, Marie-Claire Blache, Pascal Papillier and Svetlana Uzbekova

P56- Effets des polluants environnementaux sur le développement et l'aggravation de glioblastome

Sara BENHARRAT, Corinne AUGÉ-GOUILLOU, Stéphane MORTAUD

P57- Exploiting spermidine N-hydroxycinnamoyltransferase diversity and substrate promiscuity to produce various trihydroxycinnamoyl spermidines in engineered yeast

Jennifer Perrin, Natalja Kulagina, Marianne Unlubayir, Thibaut Munsch, Inês Carqueijeiro, Thomas Dugé de Bernonville, Johan-Owen De Craene, Marc Clastre, Benoit St-Pierre, Nathalie Giglioli-Guivarc'h, David Gagneul, Arnaud Lanoue, Vincent Courdavault, and Sébastien Besseau

P58- Unravelling the multiple nudiviral integration traces within insect genomes.

Bézier A., Leobold M., Gayral P., Drezen J-M., Herniou E.A

P59- Régulation saisonnière du réseau vasculaire de l'hypothalamus médio-basal chez le mouton

Pierre-Marie Chevillard, Martine Batailler, Marie-Claire Blache, Benoît Piégu, Anthony Estienne Jean-Philippe Dubois, Joelle Dupont et Martine Migaud.

P60- Etude du rôle synaptique de DPYSL5, un gène impliqué dans la déficience intellectuelle

Florence Desprez, Sylviane Marouillat, Médéric Jeanne, Jérôme Honnorat, Annick Toutain, Marie-Laure Vuillaume, Frédéric Laumonier

P61- Identification of novel gene variants for Autism Spectrum Disorders in the Lebanese population using whole-exome sequencing

Perla Gerges, Tania Bitar, Frederic Laumonier, Georges Nemer, Christian R. Andres, Walid Hleihel

P62- Innate immune receptors, NLRP3 and NLRP6, are involved in lung inflammation to cigarette smoke exposure

S. Huot-Marchand, [A. Gombault](#), M. Nascimento, C. Panek, F. Savigny, M. Le Bert, B. Ryffel, V. Quesniaux, N. Riteau and I. Couillin

P63- Identification of new genes of interest in amyotrophic lateral sclerosis by microarrays and NGS analyses: focus on the Ubiquitin/SUMO pathways

[Shanez Haouari](#), Christian Andrès and Patrick Vourch'

P64- Enhanced bioproduction of anticancer precursor vindoline by yeast cell factories

[Natalija Kulagina](#), Grégory Guirimand, Céline Melin, Pamela Lemos-Cruz, Ines Carqueijeiro, Johan-Owen De Craene, Audrey Oudin, Vladimir Heredia, Konstantinos Koudounas, Marianne Unlubayir, Arnaud Lanoue, Nadine Imbault, Benoit St-Pierre, Nicolas Papon, Marc Clastre, Nathalie Giglioli-Guivarc'h, Jillian Marc, Sébastien Besseau, Vincent Courdavault

P65- Expanding duplication of the testis-specific Phf7 gene family in the chicken genome

S Fouchécourt, V Fillon, C Marrault, C Callot , B Piégu, [C Lécureuil](#), P Monget

P66- Effets sublétaux d'un pesticide à action perturbateur endocrinien sur le comportement maternel et la reproduction chez le forficule européen (Forficula auricularia)

Leslie-Anne MERLEAU, Izia LARRIGALDIE, Séverine DEVERS, Joël MEUNIER* and [Charlotte LECUREUIL](#)

P67- Atomic level description of the Binding of the Cancer-Related TCTP Protein to the drug sertraline and to the Mcl-1 anti-apoptotic protein

Florian MALARD, Eric JACQUET, Naima NHIRI, Christina SIZUN, Jérôme DEJEU, Stéphane BETZI, Xu ZHANG, Amélie CHABRIER, Samir MESSAOUDI, Aurélien THUREAU, Ludovic CARLIER, [Ewen LESCOP](#)

P68- Transcriptomics in a tropical tree identify a P450 catalyzing distinct cyclizations of monoterpene indole alkaloids

[Louis-Valentin Méteignier](#), Caroline Birer Williams, Mehdi A. Benidir, Pierre Le Pogam, Christelle Dutilleul, Arnaud Lanoue, Céline Melin, Audrey Oudin, Sébastien Besseau, Vincent Courdavault

P69- La Plateforme d'Ecologie Chimique de l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte

[Elfie Perdereau](#), Christophe Lucas

P70- Composition de vésicules extracellulaires du liquide folliculaire ovarien chez la vache.

[Svetlana Uzbekova](#), Emilie Maugrion, Lucie Combes-Soia, Ana-Paula Teixeira, Rustem Uzbekov, Galina Singina, Ekaterina Shedova, Valerie Labas

POSTERS

Impact of human cathepsin S upregulation on the integrity of epithelial barriers in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)

Paul Bigot^{1,2}, Simon Chesseron^{1,2}, Damien Sizaret^{1,3}, Ahlame Saidi^{1,2}, Fabien Lecaille^{1,2}, Gilles Lalmanach^{1,2**}

¹ Université de Tours, Tours, France

² INSERM, UMR1100, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Team « Mécanismes Protéolytiques dans l'Inflammation », Tours, France

³ CHRU Tours, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Tours, France

Long term smoking is accountable for more than 80% of COPD (3rd leading cause of death worldwide), which is a chronic lung disease characterized by a progressive and irreversible airflow obstruction with acute exacerbation (bacterial and viral infection) associated to an increased permeability of epithelial barriers. During COPD, exposure to cigarette smoke triggers the overexpression of elastinolytic cathepsin S (CatS), thus contributing to emphysema. As CatS may cleave some junctional proteins, we hypothesized that CatS could participate in epithelial barrier breakdown during COPD. First, we analyzed by immunochemical approaches levels of junctional proteins in lung tissues (biopsies from non-COPD and COPD patients). A decreased expression level of occludin was observed in lung tissues from smokers. The level of occludin correlated negatively with the smoking history of patients and COPD grades as well with CatS activity. Addition of CatS increased permeability of lung epithelial (16HBE) cells, which is associated with a specific cleavage of occludin. Then, we analyzed the impact of exposure to cigarette smoke extract (CSE) on THP-1 macrophages. CSE upregulated the expression of macrophage CatS through the mTOR/TFEB signaling pathway. In a co-culture model of THP-1/16HBE cells, an increase of epithelial permeability was observed following CSE exposure. Use of pharmacological inhibitors of CatS as well as its transcriptional inhibition by siRNA restored the basal permeability of 16HBE epithelial cells. Altogether with its deleterious elastinolytic activity, this study supports that CatS may have a detrimental effect on the integrity of lung epithelial barriers, therefore emphasizing the therapeutic relevance of targeting CatS in COPD.

Mots-clés : COPD ; cathepsin S ; cigarette smoke ; epithelial permeability ; junctional proteins

Cathepsin C-independent maturation of granzyme zymogens in cytotoxic lymphocytes

Roxane Domain¹, Thomas Baranek², Christophe Paget², Brice Korkmaz¹

¹: INSERM U1100, Centres d'étude des pathologies respiratoires, Equipe 2: Mécanismes protéolytiques dans l'inflammation. ²: INSERM U1100, Centres d'étude des pathologies respiratoires, Equipe 1: Infection respiratoire et immunité.

Granzymes are serine proteinases present in cytotoxic lymphocytes and involved in elimination of virus infected and cancerous cells. As other related immune cell serine proteinases, granzymes are matured *in vitro* by a cysteine proteinase called, cathepsin C (CatC). However, biochemical characterization of granzymes A and B in cytotoxic lymphocytes from Papillon-Lefèvre syndrome (PLS) patients with CatC deficiency allowed the highlighting of a CatC independent processing and maturing pathway. Patients with PLS retained significant granzyme activities (~50-60%) in cytotoxic lymphocytes and displayed normal cytotoxicity against cancer cells. These results suggested that CatC is not the unique proteinase involved in the maturation of pro-granzymes in human lymphocytes. The presence of CatC-like proteinase(s) might provide a molecular explanation for the lack of a generalized cytotoxic T-cell activity in patients with PLS.

Key words: granzymes, cathepsin C, Papillon-Lefèvre syndrome

Acknowledgements to the University of Tours for the funding of this PhD.

Etude la réponse immuno-inflammatoire après l'infarctus du myocarde et de son implication dans le remodelage fibreux dans un modèle *in vitro*

Elodie Miguelestorena-Standley^{1,2}, Ana Valeria Vinhais da Silva¹, Stéphanie Chadet¹, Audrey Héraud¹, Roxane Lemoine¹, Fabrice Ivanès^{1,3}, Denis Angoulvant^{1,3}

¹ Université de Tours, EA4245 Transplantation, Immunologie, Inflammation, Tours, France

² CHRU de Tours, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Tours, France

³ CHRU de Tours, Service de Cardiologie, Tours, France

Introduction : Lors de l'infarctus du myocarde (IDM), la nécrose des cardiomyocytes est à l'origine d'une inflammation aiguë suivie d'une phase de réparation aboutissant au développement d'une cicatrice fibreuse source de remodelage du myocarde. Chez certains patients, une inflammation persistante et/ou trop intense pourrait favoriser l'extension de cette fibrose. Les facteurs responsables de cette réponse inflammatoire sont mal connus mais pourraient impliquer certains récepteurs purinergiques, en particulier P2RY11, et une polarisation particulière de la réponse lymphocytaire T CD4. L'objectif de notre travail était de caractériser le profil immuno-inflammatoire de patients au décours de l'IDM et de mettre au point un modèle de co-culture *in vitro* impliquant les cellules immunitaires des patients (PBMC) et des fibroblastes cardiaques humains.

Matériels et méthodes : Le sang de patients ayant eu un IDM avec sus-décalage du segment ST revascularisé dans les 12 heures a été collecté à différents temps après l'IDM (H0, H4, H24, H48, J3, M1, M6, M12) et comparé à du sang de donneurs sains. Les concentrations des chimiokines plasmatiques ont été mesurées par cytométrie en flux multiplex et les niveaux d'expression de P2RY11 et de gènes impliqués dans la tolérogénicité des cellules dendritiques et dans la polarisation des lymphocytes T par RT-qPCR et cytométrie en flux. Les PBMC de patients ont été mises en co-culture avec une culture primaire de fibroblastes cardiaques humains pendant 1, 3 et 6 jours et les profils phénotypique et sécrétoire des fibroblastes ont été analysés par cytométrie en flux et technique colorimétrique Sircol respectivement.

Résultats : Dans les 48 heures après l'IDM, on observe une augmentation de la concentration des chimiokines CXCL10, CXCL9, CXCL8, CXCL1, CCL3 et CCL20 dans le plasma, des niveaux d'expression des gènes P2RY11, HO1, CD39, STAT3, CD4, et de l'expression protéique de P2RY11 dans les PBMC ; ainsi qu'une diminution du niveau d'expression des gènes IDO, CD3 et CD8, du ratio Th1/Th2 et du pourcentage de lymphocytes T CD3+. *In vitro*, on observe une augmentation de la concentration de collagène soluble dans le surnageant de co-culture et une augmentation du ratio α -SMA/vimentine dans les fibroblastes cardiaques mis en co-culture avec des PBMC de patients. **Conclusion** : Nos résultats, obtenus sur une cohorte de bon pronostic, montrent un profil réparateur dans les temps précoces après l'IDM associant une diminution du ratio Th1/Th2 et une surexpression de P2RY11. *In vitro*, ces PBMC sont responsables d'une transformation plus rapide des fibroblastes vers un profil myofibroblastique sécréteur de collagène.

Mots-clés : Infarctus du myocarde, réponse immuno-inflammatoire, remodelage ventriculaire, P2Y11R

Utilisation de Solvants Eutectiques Profonds Naturels (NaDES) pour la bioraffinerie de microalgues en cosmétique : focus sur les acides gras libres

L. Wils^{1,2}, S. Hilali¹, C. Leman-Loubière^{1,3}, N. Bellin², B. Clément-Larosière³, C. Bodet², L. Boudesocque-Delaye¹

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

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

³ Société Aqua Eco Culture, 22400 Lamballe, France

Les microalgues représentent une ressource naturelle renouvelable en molécules à haute valeur ajoutée comme les pigments (phycobiliprotéines et caroténoïdes) et les acides gras libres (AGL), notamment les acides gras poly-insaturés (AGPI). Les AGL sont des métabolites recherchés dans le domaine cosmétique pour leurs activités anti-inflammatoire et antimicrobienne. A l'heure actuelle, les FFA sont communément extraits par solvants pétrochimiques, toxiques pour la santé humaine et l'environnement. Cette étude a pour objectif de s'affranchir des procédés actuels en développant une méthode d'extraction plus verte dans une démarche de bioraffinerie. Ce nouveau procédé fait appel aux NaDES (Natural Deep Eutectic Solvents), des solvants bio-sourcés à fort pouvoir de solubilisation de molécules bioactives.

Dans cette étude, trois microalgues ont été comparées : une microalgue bleue (*Athrospira platensis*), une rouge (*Porphyridium cruentum*) et une verte (*Chlorella sorokiniana*). Chaque famille de microalgues est caractérisée par une paroi cellulaire distincte. Les parois de microalgues sont réputées pour être robustes et limiter l'accès aux métabolites. Le premier axe de cette étude consiste à choisir la technique permettant le meilleur accès au contenu cellulaire, pour cela, différents pré-traitements ont été comparés : congélation, séchage, broyage ou co-produit d'extraction.

Le deuxième axe repose sur le développement d'une librairie de NaDES et leur criblage sur les différentes biomasses. 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 AGL. Un premier screening de NaDES a été réalisé sur la base de leur sélectivité. Dans un second temps, plusieurs procédés extractifs ont été comparés montrant des facteurs d'enrichissement et des sélectivités prometteuses, permettant la levée de verrous technologiques majeurs inhérents à l'utilisation de NaDES.

Enfin dans le troisième axe, l'activité biologique des extraits enrichis a été étudiée. La cytotoxicité des extraits et des NaDES a été évaluée sur kératinocytes et sur des souches du microbiote cutané (pathogènes ou commensales) : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Cutibacterium acnes* et *Corynebacterium xerosis*.

Mots-clés : NaDES, microalgues, bioraffinerie, acides gras libres, peau

Activation mechanisms and functions of MAIT cells during pneumococcal infection

Emilie BARSAC¹, Antoine HANKARD¹, Loïc GONZALEZ¹, Mégane FERNANDEZ¹, Alizée MEREAU¹, Vikrant MINHAS², Jan-Willem VEENING², Mustapha SI-TAHAR¹, Thomas BARANEK¹, Christophe PAGET¹

¹INSERM, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, UMR1100, Faculté de Médecine, Université de Tours, 37012 Tours, France ; ²Department of Fundamental Microbiology, Faculty of Biology and Medicine, University of Lausanne, CH-1015 Lausanne, Switzerland

Streptococcus pneumoniae (pneumococcus) is a prime cause of community-acquired pneumonia worldwide that can lead to invasive life-threatening infections especially in children and elderly. Due to increasing antibiotic resistance and the low serotype coverage of vaccines, pneumococcus-related pneumonias are by no means under control. In this context, a better understanding of the host anti-pneumococcal response is mandatory to propose innovative antimicrobial approaches. Mucosal-Associated Invariant T (MAIT) cells represent a unique class of T cells with potent immune functions at barrier sites including lungs. Upon activation, MAIT cells exhibit potent antimicrobial functions including cytotoxic activity as well as the production of immunomodulatory cytokines. However, the natural contribution of MAIT cells in anti-pneumococcal response is unknown. Using an experimental model of pneumococcal infection, we highlighted a protective role for MAIT cells in mouse survival. Specifically, our preliminary data point towards a better control of bacterial dissemination through MAIT cell-mediated neutrophilia. In addition, by combining the use of neutralizing antibodies and mutant pneumococcal strains, we show that activation of mouse and human MAIT cells in response to pneumococcus relies both on TCR-dependent and -independent signals. Interestingly, our data suggest that specific MAIT cell functions can be preferentially dependent on either TCR or cytokine receptor signaling. Altogether, our results suggest that the protective functions of MAIT cells during *S. pneumoniae* infection rely on both innate and adaptive activation mechanisms.

Keywords: MAIT cells, *S.pneumoniae*, cytokines, MR1, TCR, Activation mechanisms

Vaccin nanoparticulaire contre la toxoplasmose de la faune sauvage en captivité

Pauline Cantin, Nathalie Moiré, Céline Ducournau, Didier Betbeder, Isabelle Dimier-Poisson
UMR Université - INRA 1282 INFECTIOLOGIE ET SANTE PUBLIQUE - BioMAP

Les saïmiris, singes du Nouveau Monde d'Amérique du Sud, sont très sensibles à la toxoplasmose. Celle-ci pouvant passer complètement inaperçue car les signes cliniques ne sont pas spécifiques : léthargie, dépression, anorexie et diarrhée, ainsi qu'une insuffisance respiratoire. L'infection à *T. gondii* induit des lésions nécrotiques. De nombreux cas d'épidémies de toxoplasmose dans les zoos ont été recensés dans le monde, entraînant le décès de façon brutale en quelques jours des saïmiris. Le développement d'un vaccin contre la toxoplasmose est une priorité sanitaire pour ces saïmiris. Ces dernières années, l'équipe BioMAP en partenariat avec la Biotech Vaxinano a démontré l'efficacité d'un vaccin sous-unitaire muqueux contre *T. gondii* en modèle murin et ovin. Le vaccin, administrable par voie intranasale, utilise l'extrait total du parasite (ET) encapsulés dans des nanoparticules muco-pénétrantes et muco-adhérentes constituées de maltodextrine et d'un cœur lipidique. Après 2 immunisations espacées de 3 semaines, ce vaccin induit une forte réponse immunitaire cellulaire de type Th1. (Dimier-Poisson et al, 2015 ; Ducournau et al., 2017 ; Ducournau et al., 2020). Le vaccin a été utilisé dans cinq zoos partenaires français en suivant le principe de la cascade vétérinaire. Une soixantaine de saïmiris ont été vaccinés. Un suivi des animaux a été possible grâce aux informations recueillies lors des vaccinations ainsi qu'aux prélèvements effectués par les vétérinaires permettant l'étude de la réponse immunitaire humorale et cellulaire. Nous avons étudié la réponse immunitaire humorale systémique et mesuré la sécrétion d'IgG spécifiques de *T. gondii*. Nos résultats montrent que la vaccination n'a pas induit de réponse humorale. Ainsi, il est possible d'identifier les animaux naturellement infectés des animaux vaccinés. En parallèle, nous avons observé une augmentation significative de la sécrétion d'IFN- γ spécifique de *T. gondii* après administrations du vaccin. L'IFN- γ étant le médiateur clé de la résistance à *T. gondii*, ces résultats suggèrent le développement d'une réponse immunitaire cellulaire de type Th1 protectrice pour les saïmiris vaccinés. En effet depuis l'introduction de la vaccination dans les parcs partenaires, bientôt 4 ans, aucune mortalité due à la toxoplasmose n'a été constatée.

Mots-clés : Toxoplasmose, Nanoparticules, Faune sauvage, Vaccination, Voie muqueuse

Développement d'un modèle animal de pneumocystose

Chesnay^{1,2}, T. Baranek², G. Desoubeaux^{1,2}

¹ Unité INSERM U1100, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), Université de Tours,

² CHRU de Tours, Service de Parasitologie-Mycologie–Médecine tropicale

La pneumocystose est une infection respiratoire grave qui survient préférentiellement chez les patients immunodéprimés. Elle implique un champignon ubiquitaire au comportement opportuniste, *Pneumocystis jirovecii*, qui serait le deuxième agent fongique le plus fréquent responsable de mycoses invasives, derrière *Candida* spp.. A travers le monde, la pneumocystose touche plus de 500 000 patients chaque année. Malgré l'avancée des connaissances, la pneumocystose comporte encore de nombreuses inconnues, notamment en ce qui concerne sa physiopathologie. Dans un contexte où il n'existe pas de système de culture continue *in vitro* de *Pneumocystis* spp. malgré de nombreuses recherches, les modèles animaux représentent un outil indispensable dans l'étude de la pneumocystose. L'objectif de ce travail est de développer un modèle de pneumocystose par inoculation intranasale de *Pneumocystis* chez la souris immunodéprimée par corticothérapie. Ce modèle permettra par la suite d'étudier la réponse immunitaire de l'hôte vis-à-vis de *Pneumocystis*.

EZH2, une cible thérapeutique pour le carcinome à cellules de Merkel

Marie-Alice Durand¹, Alice Mouchard^{1,2}, Clara Esnault¹, Patricia Berthon¹, Mahtab Samimi^{1,2},
Antoine Touzé¹, Thibault Kervarrec^{1,3}

¹ Biologie des Infections à Polyomavirus, UMR ISP 1282, Université de Tours, Tours, France,

² Service de dermatologie, Université de Tours, CHU de Tours, Tours, France,

³ Service d'anatomopathologie, Université de Tours, CHU de Tours, Tours, France

Le carcinome à cellules de Merkel (CCM) est un cancer cutané rare et agressif. En 2008, l'intégration du Polyomavirus à cellules de Merkel (MCPyV) ainsi que l'expression des deux oncogènes viraux, ont été identifiés comme les déterminants oncogéniques majeurs de ce cancer. Plus récemment, l'expression d'EZH2 (Enhancer of Zeste Homolog 2), une histone méthyltransférase impliquée dans l'agressivité de plusieurs cancers solides, a été observée dans les tumeurs CCM. Dans ce contexte, notre hypothèse de travail est que l'expression d'EZH2 pourrait être induite par les oncogènes viraux et représenter une cible thérapeutique pour le CCM. Afin de confirmer cette hypothèse, l'expression d'EZH2 et sa cible H3K27me3 ont été évaluées selon un score semi-quantitatif par immunohistochimie sur tissue-microarray (TMA) incluant les tumeurs de 167 patients issus d'une cohorte. Cette analyse a confirmé l'expression d'EZH2 dans la plupart des CCM (n=125/167 ; 74,8%), corrélée à des niveaux forts de H3K27me3 (p=0,009). Des niveaux d'expression élevés d'EZH2 étaient associés à un mauvais pronostic (survie sans récurrence) suggérant que cette enzyme puisse contribuer à l'agressivité du CCM. De plus, des niveaux d'expression plus élevés d'EZH2 ont été mis en évidence dans les tumeurs MCPyV-positives par rapport aux tumeurs MCPyV-négatives (p=0,022) suggérant une possible induction de l'expression d'EZH2 par les oncogènes viraux. De même, l'expression ectopique des oncogènes viraux dans des fibroblastes primaires induisait la surexpression d'EZH2 in vitro. Par ailleurs, l'inhibition d'EZH2 par ARN interférence (shARN) ou par des inhibiteurs chimiques (tazemetostat ou GSK343) dans les lignées de CCM induisait la mort cellulaire in vitro (tests de viabilité, analyses du cycle cellulaire, mixed culture assay). Pour conclure, la surexpression d'EZH2 dans les tumeurs de CCM et son rôle dans l'agressivité tumorale suggère que cette enzyme de régulation épigénétique puisse constituer une potentielle cible thérapeutique pour le CCM.

Mots-clés : Carcinome à cellules de Merkel, EZH2, épigénétique

Une nouvelle approche thérapeutique ciblant le CD56 dans le carcinome à cellules de Merkel

Clara Esnault^{1,2}, Valérie Leblond¹, Camille Martin³, Audrey Desgranges³, Christine B. Baltus³, Nicolas Aubrey⁴, Zineb Lakhrif⁴, Laurie Lajoie^{5,6}, Louis Lantier⁴, Roland Houben², David Schrama², Yang Feng⁷, Serge Guyétant^{1,8}, Patricia Berthon¹, Marie Claude Viaud-Massuard^{3,9}, Mahtab Samimi^{1,10}, Antoine Touzé¹, Thibault Kervarrec^{1, 2, 8}

- (1) ISP UMR 1282, INRAE, Université de Tours, Equipe "Biologie des Infections à Polyomavirus", Tours
- (2) Department of Dermatology, Venereology and Allergology, University Hospital Würzburg, Würzburg, Allemagne
- (3) McSAF, Tours
- (4) ISP UMR 1282, INRAE, Université de Tours, Equipe BIOMAP, Tours
- (5) GICC EA7501, Université de Tours, Equipe FRAME, Tours
- (6) Plateforme Scientifique et Technique, analyse des systèmes biologiques département des cytométries, Université de Tours, Tours
- (7) Tumor Angiogenesis Unit, Mouse Cancer Genetics Program, NCI-Frederick, Frederick, MD 21702, USA
- (8) Service de pathologie, Université de Tours, CHU de Tours, Chambray-les-Tours
- (9) GICC EA7501, Université de Tours, Equipe IMT, Tours
- (10) Service de dermatologie, Université de Tours, CHU de Tours, Chambray-les-Tours

Le carcinome à cellules de Merkel (CCM) est un cancer cutané neuroendocrine rare mais agressif. Les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire ont révolutionné le traitement des patients atteints de CCM de stade IV cependant, la moitié des cas ne répondent pas à cette thérapie. L'expression du CD56 a été observée dans 66% des CCM confirmant la pertinence de cette cible thérapeutique.

Le but de cette étude est d'évaluer les performances thérapeutiques d'un nouvel immunoconjugué, Adcitmer® ciblant le CD56 dans un modèle préclinique de CCM. La reconnaissance spécifique du CD56 et l'internalisation de l'Adcitmer® a été démontrée. L'évaluation in vitro a confirmé un effet cytotoxique de l'Adcitmer® sur les lignées de CCM et l'effet sur le cycle cellulaire a été démontré. Pour finir, la réduction de la croissance tumorale a été mise en évidence dans un modèle de xénogreffe de CCM.

Pour conclure, l'immunoconjugué présente une cytotoxicité spécifique dans un modèle préclinique de CCM. Cette molécule est une option thérapeutique prometteuse pour les patients atteints de CCM métastatique en échec de traitement ou en combinaison avec les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire.

Mot clés : carcinome à cellules de Merkel, CD56, immunoconjugué

Développement d'anticorps armés originaux dans le traitement des cancers du sein

Louis Jolivet (1), Fanny Boursin(1), Nicolas Joubert(2), Emilie Allard-Vannier(3), Anne Poupon (4),
Nicolas Aubrey(1)

(1) UMR ISP (Biomap), (2) GICC (IMT), (3) EA6295 (NMNS), (4) MabSilico,

L'arsenal thérapeutique dédié aux cancers du sein (CS) et en particulier aux cancers du sein triple négatif (CSTN) est limité. Des recherches récentes ont mis en évidence une surexpression de l'antigène de surface des trophoblastes 2 (TROP-2) dans les CSTN et d'autres CS. Notre objectif est de concevoir et développer de nouvelles stratégies chimio-thérapeutiques vectorisées pour la prise en charge de ces pathologies.

Pour créer des « Antibody Drug Conjugate (ADC) » innovants et, plusieurs éléments sont importants et peuvent être optimisés : (i) l'anticorps et (ii) son format, (iii) le lien chimique et (iv) l'agent cytotoxique. Le premier aspect abordé est l'identification d'un nouvel anticorps anti-Trop-2. Pour ce faire, une méthode innovante *in silico* a été utilisée afin de réduire le temps et le coût de développement. La société MAbSilico a ainsi généré plusieurs domaines variables lourds et légers *via* son outil MAbSubstitute. Après production en format Fab et purification, un candidat a montré une affinité vis-à-vis de l'antigène. Par la suite, cet anticorps nouvellement créé fera l'objet d'une maturation, afin de présenter des qualités optimales en termes d'affinité, d'expression, de stabilités, etc... Des formats originaux dérivant de cet anticorps « propriétaire » optimisé seront alors générés, puis conjugués par le GICC pour permettre de générer des « Fragment-Drug Conjugates » (FDCs). Ils seront par la suite validés *in vitro* et *in vivo* en partenariat avec l'unité EA6295.

Détermination du régulon de CcpA, un régulateur pléiotropique chez le pathogène *Streptococcus agalactiae*

Anne-Emmanuelle Roux^a, Laurent Mereghetti ^{a,b}, Emilie Camiade ^a

a : ISP, Université de Tours, INRAE, Tours, F-37000, France

b : CHRU de Tours, Service de Bactériologie–Virologie, F-37044 Tours, France

Le pathogène opportuniste *Streptococcus agalactiae* est responsable de diverses infections chez un large spectre d'hôtes. La diversité des environnements rencontrés par cette bactérie montre sa grande adaptabilité et nécessite une grande capacité à acquérir des nutriments. Chez les bactéries, la répression catabolique permet de prioriser l'entrée et le catabolisme des sucres présents dans l'environnement. Chez les bactéries à Gram positif, CcpA (catabolite control protein A), un régulateur transcriptionnel pléiotrope, joue un rôle clé dans la répression catabolique. Complexée à son co-effecteur phosphorylé HPr (histidine-containing phosphocarrier protein), elle se lie à des séquences d'ADN spécifiques, les sites *cre* (*catabolite response element*) en entraînant l'activation ou la répression des gènes. Certaines études ont montré l'implication de la répression catabolique dans l'adaptation et la résistance au stress chez certaines bactéries.

Le but de cette étude est de déterminer le régulon et le rôle de CcpA dans la physiologie et l'adaptation de *S. agalactiae*.

Pour déterminer le régulon de CcpA, un transcriptome a été réalisé en milieu chimiquement défini additionné de 0,25% glucose en mi-phase exponentielle de croissance avec les souches de *S. agalactiae* sauvage et délétée du gène codant *ccpA*. La présence de sites *cre* dans le génome de la souche de *S. agalactiae* A909 a été recherchée par analyse *in silico* avant de valider la séquence du site de fixation par retard sur gel. Enfin, la régulation par CcpA de gènes codant des protéines putativement impliquées dans la réponse au stress est en cours d'étude via des expériences de fusion transcriptionnelles.

Le transcriptome montre que CcpA régule 13,5% du génome (274 gènes). Parmi ces gènes, 77 possèdent un site *cre* selon notre recherche *in silico*. Les expériences de retard sur gel confirment le site *cre* prédit par Regprecise. Par ailleurs, les fusions transcriptionnelles ont permis de confirmer que CcpA réprimait fortement le gène *SAK_1689* (locus: *SAK_RS08505*), qui présente plus de 50% d'identité avec *Imo1580* de *Listeria monocytogenes* impliqué dans la résistance aux stress acide et oxydant.

Mots clés : *Streptococcus agalactiae* - CcpA - adaptation.

Impact du microbiote intestinal et de ses métabolites sur le développement et la maturation du système immunitaire inné périphérique chez le poulet

Vincent Saint-Martin, Vanaique Guillory, Sascha Trapp, Pascale Quéré, Rodrigo Guabiraba

UMR 1282 ISP, INRAE Centre Val de Loire Nouzilly, Université de Tours

Le microbiote intestinal (MI) est essentiel au maintien de l'homéostasie intestinale, à la maturation du système immunitaire et à la résistance aux agents pathogènes. Le MI favorise et calibre de nombreux aspects du développement du système immunitaire inné via la production de métabolites, comme les acides gras à chaîne courte (AGCC). De nouvelles données expérimentales chez la souris soulignent l'existence d'un dialogue entre le MI et les poumons, appelé « axe intestin-poumon », qui s'avère crucial dans l'immunité des muqueuses. Plusieurs composants et métabolites dérivés du MI, tels que les AGCC, se sont révélés des médiateurs essentiels qui régulent le fonctionnement du système immunitaire inné périphérique. Néanmoins, l'axe intestin-poumon est un concept qui reste inexploré chez le poulet, chez qui les agents pathogènes responsables des maladies aviaires les plus importantes sur le plan économique ciblent les tractus respiratoire et digestif. Nos données préliminaires montrent que les AGCC sont bien détectables dans les poumons et la rate de poulets. En outre, l'expression de gènes associés au fonctionnement et à la maturation des leucocytes (e.g. CCR2, CD14, FLT3) est diminuée chez des poulets dépourvus de microbiote. Nous formulons l'hypothèse que le MI du poulet et ses métabolites sont essentiels pour assurer un développement et un fonctionnement appropriés du système immunitaire inné le long de l'axe intestin-poumon. En nous appuyant sur la comparaison entre poulets holoxéniques (microbiote « normal ») et axéniques (sans microbiote), nous étudierons ces effets sur différents organes. Nos données indiquent qu'il n'existe pas de différence entre le nombre et le phénotype des leucocytes de rates d'animaux holoxéniques ou axéniques. Ces résultats partiels seront complétés par l'étude de l'immunité innée et antivirale chez des splénocytes stimulés. En parallèle, nous explorerons les effets des AGCC (acétate, butyrate et propionate) sur un modèle cellulaire original de cellule épithéliale de poumon de poulet. Nos premiers résultats mettent en évidence une augmentation de l'expression d'OAS^{*}A (OAS) et EIF2AK2 (PKR), deux gènes de l'immunité antivirale, et de l'IL1B (IL-1 β), par le butyrate ou par le propionate à des concentrations physiologiques. Ces mêmes métabolites potentialisent la réponse immunitaire médiée par les interférons de type I (IFN-I) et par un agoniste TLR3. Ces données seront complétées par des expériences *ex vivo* avec des coupes fines de poumon (PCLS) et par des infections *in vivo* avec le virus influenza aviaire. Ces données ouvriront la porte à des nouvelles pratiques d'élevage et au développement de probiotiques dont le rôle serait de favoriser un développement précoce et favorable du microbiote et du système immunitaire.

Mots-clés : immunité innée, Influenza aviaire, microbiote, métabolites, poulet

Conception rationnelle de S-Glycosyltransférases issues d'*Arabidopsis thaliana* à façon: de la modélisation aux applications thérapeutiques et cosmétiques

Damien Bretagne, Richard Daniellou, Pierre Lafite

ICOA / Université d'Orléans / Région Centre-Val de Loire / Labex

Les Glycosyltransférases (GT) sont utilisées naturellement comme enzymes afin de réaliser la synthèse de nouveaux glycosides par transfert d'un sucre vers un accepteur. Elles peuvent être modifiées par ingénierie génétique afin d'élargir la spécificité de substrat ou pour augmenter leur stabilité en fonction des conditions expérimentales. En utilisant la particularité structurale de certaines GT (famille GT-B) qui possèdent deux domaines distincts, le premier spécifique du donneur de sucre et le second reconnaissant la molécule à glycosyler, ce projet propose une nouvelle approche d'ingénierie protéique en combinant des domaines de différentes GT. Pour ce faire les domaines initialement reliés entre eux par une liaison peptidique sont réassemblés de manière non covalente et modulaire afin d'obtenir des chimères capables de synthétiser le glycoside désiré à façon.

Pour mettre en place cette nouvelle approche, les S-glycosyltransférases UGT74B1 et UGT74C1 issues d'*Arabidopsis thaliana* ont servi de modèles, afin de mettre en place une méthodologie de clonage et de co-expression des différents domaines. Plusieurs chimères ont ainsi pu être isolées et purifiées et ont démontré de nouvelles activités enzymatiques, par rapport aux enzymes initiales. Par ailleurs, la réalisation de chimères à partir d'enzymes issus d'autres organismes, comme UGT51 (*Saccharomyces cerevisiae*) ou UGT78G1 (*Medicago truncatula*), a mis en exergue la difficulté de l'extension de cette approche modulaire à d'autres GT-B. A partir des premières chimères obtenues et de leur caractérisation enzymatique, l'étude par cristallographie et/ou la modélisation permettent de mieux de comprendre les interactions interagissant entre les domaines, et ouvrent la voie à l'utilisation de ces chimères pour synthétiser des glycosides d'intérêt cosmétique ou thérapeutique.

Mots-clés: S-Glycosyltransférases, chimère, co-expression, modélisation, ingénierie enzymatique

**Design et synthèse de Conjugués Anticorps-Fluorophores (AFC)
proche infrarouge comme agents d'imagerie médicale pour le
cancer du sein.**

Thibault Brisker, Marie-Aude Hiebel, Stéphane Petoud, Svetlana Eliseeva, Franck Suzenet, Nicolas Joubert

Equipe Chembiolite, ICOA (Orléans), UMR 7311, Equipe IMT EA 7501 GICC (Tours), CBM UPR 4301 (Orléans)

Le cancer du sein est le type de cancer le plus fréquent chez la femme. Si les outils actuels d'imagerie et de diagnostic sont performants, ils restent néanmoins coûteux, invasifs et nécessitent des structures adaptées. L'imagerie optique est une solution alternative de choix, qui est une technique sûre, rapide, avec une excellente résolution. Le proche infrarouge (IR, entre 700 et 1000nm) est la fenêtre optique optimale pour une application en milieu biologique. Nos laboratoires sont spécialisés dans la conception de sondes fluorescentes proche infrarouge innovantes et performantes dans cette gamme optique. Celles-ci sont constituées d'une antenne et d'un complexe de lanthanide absorbant et émettant respectivement dans le proche IR.

Pour vectoriser spécifiquement ces molécules sur la tumeur, nous les associons chimiquement sur des fragments anticorps monoclonaux (mAb) qui se lient aux récepteurs HER2 qui sont généralement surexprimés dans les cellules tumorales. Le procédé consistera ensuite à injecter une solution de ces conjugués (AFC) à la patiente : une fois que ceux-ci se sont accumulés dans la tumeur via le paratope des anticorps, l'excitation lumineuse peut être effectuée. Les fluorophores greffés sur les mAbs réémettent cette lumière, ce qui permet de les utiliser comme agents d'imagerie. Notre présentation portera sur la synthèse de ces fluorophores originaux et sur les problématiques associées à la construction de ces AFCs.

Développement de nouveaux modulateurs du canal SK3 pour prévenir de l'apparition de métastases

K. Brugemann¹, F. Buron¹, A. Chantôme², M. Potier-Cartereau², S. Routier¹ et C. Vandier²

¹Institut de Chimie Organique et Analytique, Université d'Orléans, UMR CNRS 7311

²Inserm UMR 1069 « Nutrition, Croissance et Cancer », Université de Tours

De nos jours, aucune solution n'existe afin de prévenir l'apparition et la propagation de métastases. Il a été observé qu'un canal ionique, le canal SK3, favorise la migration cellulaire et est fortement exprimé dans les cellules métastatiques. L'équipe N2C tourangelle a démontré *via* des études antérieures que la suppression de ce canal réduisait fortement la présence de métastases.

De ce fait, des travaux au sein de notre laboratoire ont permis de développer de nouveaux modulateurs du canal SK3 en tant que nouvelle classe de composés anti-métastatique. La molécule **GF495**, a motif pyridopyrimidine, s'est avérée être un modulateur puissant (IC_{50} SK3 = 18 nM). Les expériences *in vivo* ont également montré que ce composé n'était pas toxique à une dose de 10 μ M et annihilait l'apparition de métastase osseuse et ovarienne à une dose de 1 mg/kg/semaine, 3 fois par semaine pendant 15 semaines.

L'étude des paramètres ADME du **GF495** ont mis en évidence un site de métabolisation que nous avons identifié puis bloqué pour augmenter le temps de demi vie de notre molécule. L'ensemble de ces résultats seront présentés lors de cette communication.

Mots-clés : Métastases, canaux ioniques, SK3, métabolite

Biomass extraction and functionalization using flow chemistry technology

Flore CARE⁽¹⁾, Stéphane BOSTYN⁽²⁾, Sylvain ROUTIER⁽¹⁾, Frédéric BURON⁽¹⁾, Pierre LAFITE⁽¹⁾

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

(2) Institut de Combustion, Aérothermique, Réactivité et Environnement (ICARE), 1c avenue de la recherche scientifique, 45071 Orléans Cedex 2, France.

To respond to industrial challenges, continuous flow chemistry has risen as an innovative process alternative. Its many advantages include enhanced heat and mass transfer, providing faster, safer, and more efficient and reliable reactions, as well as easy scale up.^[1] Its seamless implementation also allows facilitated coupling to further functionalization or online analysis. These particularities can be highly attractive to develop innovative and environment-friendly cosmetic processes. Our interest has been focused on the development of an integrated process including flow extraction of cosmetic ingredients and their direct functionalization in order to enhance their properties such as stability or biological activity.

To elaborate a proof of concept of such a compact continuous process, we are currently investigating flavonoids flow extraction from black locust. Though offering interesting biological activities, flavonoids often suffer from their lack of stability or solubility. Structural modification of these compounds has been reported to overcome these obstacles,^[2] which lead us to consider online functionalization of the natural extracts.

Results on the extraction kinetics, the structural derivatization and the global compact process implementation will be presented in this communication.

[1] Kappe and al., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2015**, *54*, 23, 6688-6728

[2] Ghoul and al., *J. Agric. Food Chem.*, **2007**, *55*, 9496–9502

Intérêt des outils miniaturisés pour l'étude des LIM kinases

Solweig CHARTIER⁽¹⁾, Béatrice VALLEE⁽²⁾, Muriel SEBBAN⁽³⁾, Gaël COADOU⁽³⁾,

Bérengère CLAUDE⁽¹⁾, Reine NEHME⁽¹⁾

reine.nehme@univ-orleans.fr

(1) Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA), Université d'Orléans, Pôle de chimie, Rue de Chartres, 45100 Orléans

(2) Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), CNRS, Rue Charles Sadron, 45071 Orléans

(3) Laboratoire de Chimie organique, Bioorganique, Réactivité et Analyse (COBRA), Université de Rouen, 1 Rue Tesnière 76821 Mont-Saint-Aignan

(4)

Les LIM Kinases, LIMK1 et LIMK2, sont impliquées dans plusieurs voies de signalisation cellulaire. Elles régulent notamment la dynamique du cytosquelette d'actine en phosphorylant et inhibant la cofiline, un facteur de dépolymérisation de l'actine. Le remaniement du cytosquelette joue un rôle clé dans de nombreux phénomènes physiologiques et pathologiques, ces kinases sont donc des cibles thérapeutiques dont l'intérêt est indéniable. De nombreux agents thérapeutiques inhibant l'activité des LIM kinases ont été développés ces dernières années. Cependant, aucun de ces inhibiteurs n'a atteint l'étape des essais cliniques, ce qui est probablement dû à une méconnaissance des mécanismes spécifiques des LIM Kinases et à la difficulté de prendre en compte l'hétérogénéité cellulaire.

Dans le cadre de ce projet, le potentiel de plusieurs outils miniaturisés complémentaires sera évalué afin d'étudier l'interaction et la cinétique LIMK2 - substrat - et/ou inhibiteur dans un milieu dilué ou à l'échelle cellulaire. Pour ce faire, des systèmes micro-fluidiques (conçus spécifiquement pour ce projet), la thermophorèse à micro-échelle (MST) ainsi que l'électrophorèse capillaire seront utilisés. Les avantages et limitations de ces outils seront évalués. L'accent sera mis sur l'optimisation de chacun de ces outils et leur adaptation à l'étude de la cible d'intérêt. Des inhibiteurs décrits dans la littérature et commerciaux seront étudiés pour la mise en place de la stratégie d'analyse et sa validation.

Mots-clés : *Microfluidique, LIM Kinase, interaction cible-ligand, thermophorèse à micro-échelle*

Remerciements : *Les auteurs remercient le Labex SynOrg (ANR-11- LABX-0029) et la Région Centre Val de Loire pour le financement du projet*

Effets directs et indirects des strates vasculaires et des bryophytes sur la régénération forestière

Laura Chevaux¹, Yann Dumas¹, Marion Gosselin¹, Fabien Laroche², Anders Marell¹, Philippe Balandier³

¹INRAE, UR EFNO, Centre de Nogent-sur-Vernisson, France

²UMR 1201 Dynafor, Université de Toulouse – INRAE –INPT – EI PURPAN, F-31326 Castanet-Tolosan, France

³INRAE, Université Clermont Auvergne, UMR 547 PIAF, 63000 Clermont-Ferrand, France

Dans le développement d'une plante, les premiers stades sont plus sensibles aux changements climatiques que les arbres adultes. Certaines plantes “nurses” pourraient moduler les variations de températures du microsite. Elles pourraient aussi protéger les semis des ongulés sauvages. Les bryophytes terricoles sont présentes dans presque tous les écosystèmes. Par l'expression de certains traits morphologiques comme la densité ou l'épaisseur du tapis, elles pourraient modifier les microsites disponibles pour la régénération. Elles peuvent notamment tamponner les températures et favoriser l'humidité et l'accès aux nutriments du sol. Les différentes strates de végétation, y compris les bryophytes, peuvent également être en compétition avec la régénération. Cependant, les interactions entre la régénération forestière et les bryophytes sont méconnues et peu étudiées. C'est pourquoi nous avons mobilisé un réseau d'observation de la dynamique forestière, le REseau National de suivi à long terme des ECOsystèmes FORestier (RENECOFOR). Il est constitué de 102 placettes réparties dans toute la France et contient deux modalités, avec ou sans enclos protégeant les plantes des ongulés sauvages. Dans un système causal, nous avons étudié les effets des différentes strates de végétation et du climat sur l'abondance des semis d'arbres de l'année dans un Modèle d'Équations Structurelles (MES). Les premiers résultats montrent une différence de structure du schéma causal entre les enclos et les exclos. L'absence d'ongulés dans les enclos, par l'absence d'abrutissement, mènerait à une augmentation du recouvrement de la strate arbustive et une modification en cascade des interactions entre les strates inférieures. La strate herbacée aurait un effet négatif sur la régénération, alors que les bryophytes terricoles ne semblent pas avoir d'effet significatif sur la régénération.

La formation d'aspartimide, une réaction parasite sous-estimée lors de la synthèse de protéines. Conception d'une stratégie pour y remédier

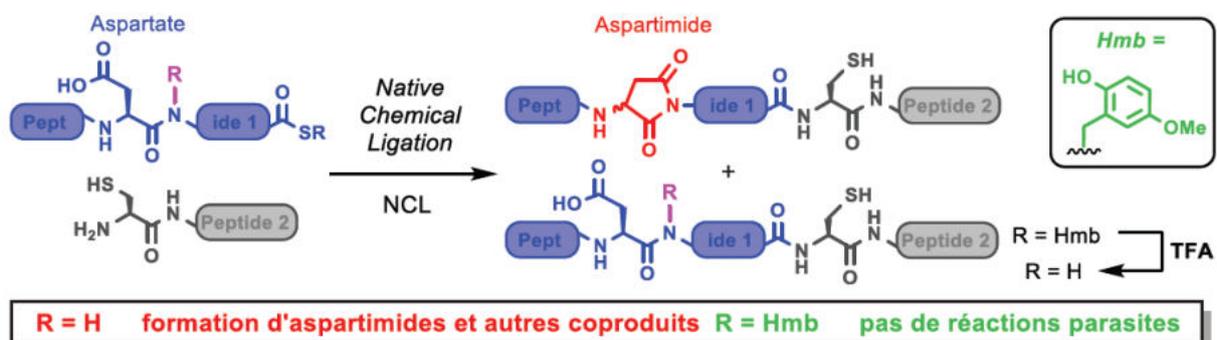
El hadji CISSE, Vincent AUCAGNE

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

La synthèse « chimique » de protéine est complémentaire à l'approche recombinante, permettant d'accéder à des protéines difficiles voire impossibles à obtenir à l'aide d'outils de biologie moléculaire et de biochimie. La découverte de la réaction de *native chemical ligation* (NCL) dans les années 90 a conduit à une véritable envolée du domaine. En permettant la formation d'une liaison peptidique entre des segments peptidiques non-protégés, les limites de la synthèse peptidique en phase solide (quelques dizaines d'acides aminés) ont été dépassées. Cette réaction s'est imposée comme méthode de choix pour la synthèse de protéines. Si la NCL est réputée très sélective et robuste, nous avons été récemment confrontés à une réaction parasite lors de la synthèse de la protéine SUMO2 : la formation d'un aspartimide,¹ résultant de l'attaque d'un atome d'azote du squelette peptidique sur la chaîne latérale d'un aspartate (voir schéma). Cette réaction est connue de longue date, tant en chimie des peptides que comme phénomène de vieillissement des protéines *in vivo*, altérant leurs propriétés physicochimiques et leurs fonctions biologiques. Le motif Asp-Gly est le plus enclin à cette cyclisation.

Une telle formation d'aspartimide pendant une réaction de NCL n'a été reporté que pour une seule autre protéine. Intrigués, nous nous sommes demandé si cette réaction pouvait être plus fréquente que l'on imaginait, et sous-estimée en raison de la génération d'autres coproduits difficilement discernables de la protéine cible. Une étude poussée à l'aide de peptides modèles suggère que cette réaction secondaire est certainement très courante.

Nous proposons ici une méthodologie générale et simple à mettre en oeuvre pour inhiber totalement cette réaction, fondée sur la protection temporaire de l'atome d'azote incriminé.



1 : S. Abboud, E.H. Cisse, M. Doudeau, H. Bénédicti and V. Aucagne, *Chem. Sci.*,2021,**12**,3194-3201.

Mots-clefs : peptide ; protéine ; ligation chimique ; groupement protecteur.

Messenger RNA Transfection of Dendritic cells with Mannosylated Lipopolyplexes: Impact of the Surface Charge on the Binding, Uptake, and mRNA Expression.

Christophe Delehedde^{1,2}, Haifei Gao¹, Ivan Ciganek¹, Cristine Gonçalves¹, Virginie Malard¹, Nathalie Rameix², Luc Even², Patrick Midoux¹ and Chantal Pichon¹.

¹Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR4301, Inserm and University of Orléans, F-45071, Orléans cedex 02, France.

²Sanofi R&D, Integrated Drug Discovery, 91385 Chilly-Mazarin, France.

COVID-19 mRNA vaccines have shed light on this vaccine modality. Cationic lipopolyplexes (LPR) comprising both synthetic mRNA coding tumour antigen, a cationic polymer and cationic liposomes have proved efficacy to induce a tumour-specific immune response. Moreover, targeting liposomes with a tri-antenna of α -D mannopyranoside (Tri-Man) improves the vaccine efficacy thanks to mannose receptor on dendritic cells [1]. Having neutral mRNA formulations is of interest as they will be less opsonized in the blood. To fine tune our formulations, we produced cationic and neutral Tri-Man liposomes and Tri-Man LPR and investigated their binding and uptake in murine dendritic cells (DC2.4 cells) and human monocytes-derived DCs (hMo-DCs). The binding of cationic liposomes on DC2.4 cells and hMo-DCs is 14- and 28-fold higher than that of neutral liposomes respectively. However, this higher binding is non-specific and most of liposomes remain at the cell surface. The uptake of cationic liposomes by DC2.4 cells and hMo-DCs is 10- and 3-fold higher compared to that of neutral liposomes, respectively. In the same way, cationic LPR bind 6.5-fold and 90-fold more than neutral LPR on DC2.4 cells and hMo-DCs, respectively. Cationic LPR are better taken up by DC2.4 cells compared to neutral LPR. Whilst, the uptake of neutral and cationic LPR by hMo-DCs is similar. Those data validate how different are murine and human cells. As expected, neutral liposomes and neutral LPR allow a better selectivity for hMo-DCs than their cationic counterpart does. Despite the similar uptake of cationic and neutral LPR by hMo-DCs, only cationic LPR were efficient. These results indicate that efficient mRNA transfection of DC by LPR requires the presence of cationic liposome. Works are in progress to decipher the role of cationic liposome on intracellular trafficking and mRNA translation.

[1]: Delehedde, C.; Even, L.; Midoux, P.; Pichon, C.; Perche, F. Intracellular Routing and Recognition of Lipid-Based mRNA Nanoparticles. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 945.

Key words: Non-viral vectors, mRNA vaccine, Lipopolyplexes, Dendritic cells

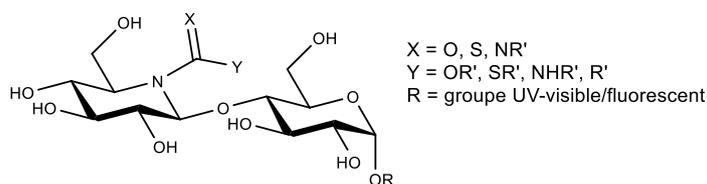
Synthèse de disaccharides iminosucre-sucre, nouveaux inhibiteurs de glycosidases

FLOQUET Rémi, Gallienne Estelle, Lopin-Bon Chrystel

Institut de Chimie Organique et Analytique – UMR 7311

Les iminosucres sont des mimes des sucres classiques, dont l'oxygène endocyclique est remplacé par un azote, protoné dans les conditions physiologiques. Cette caractéristique leur confère des propriétés inhibitrices sur les enzymes impliquant des sucres dans les processus biologiques comme les glycosidases ou les glycotransférases. De nombreux exemples de ces molécules ont été synthétisés depuis la première extraction d'iminosucres naturels, dont certains sont actuellement commercialisés, comme le miglitol (diabète de type 2) ou le miglustat (maladie de Gaucher).^[1] Ces iminosucres ont le désavantage d'être parfois peu sélectifs, ce qui entraîne l'apparition d'effets secondaires. Le développement de disaccharides ou d'oligosaccharides à base d'iminosucres a pour objectif de construire de nouveaux inhibiteurs à la fois puissants et sélectifs. Dans la littérature, on trouve de nombreux exemples dans lesquels l'iminosucre est en position réductrice de ces oligosaccharides ou s'il est en position non-réductrice, la liaison est une liaison C-glycosidique pour des raisons de stabilité.^[2]

Dans ce travail, nous développons des disaccharides iminosucre-sucre, comportant une liaison O-glycosidique, stabilisée par un groupement désactivant sur l'azote. Un des principaux enjeux de ce travail est la synthèse sélective d'une liaison β -glycosidique.^[3]



[1] P. Compain, O. Martin, 2007, *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications*.

[2] Marra & al., *Carbohydr.Chem.*, 2018, 43, 1–70.

[3] Sanchez-Fernandez & al., *Chem. Eur. J.* 2012, 18, 8527–8539.

Synthesis of C6-alkynyl-2,4-quinazolidinedione-*N*-1-ribonucleoside phosphoramidates targeting the inhibition of SARS-CoV-2

Milène Franzetti,¹ El Hadji Cisse,¹ Nicolas Biteau,¹ Gaëlle Frenois-Veyrat,² Marc Grandadam,² Frédéric Iseni,² Vincent Roy,¹ and Luigi A. Agrofoglio¹

¹ ICOA, Univ. Orléans, CNRS UMR 7311, 45067 Orléans-Fr; ² IRBA – Unité de Virologie, 91220 Brétigny-sur-Orge

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a highly pathogenic positive-sense RNA virus responsible of the novel viral pandemic COVID-19. Beside the four highly effective vaccines approved in Europe, there is an urgent need for small molecules able to inhibit its viral replication. The viral RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)¹ which is involved in viral transcription and replication has been identified as the most optimal target for an antiviral drug. Nucleos(t)ide analogs are at the forefront of antiviral therapies² and could be repositioned against SARS-CoV-2 such as Remdesivir and Molnupiravir or developed (Figure 1) against SARS-CoV-2.

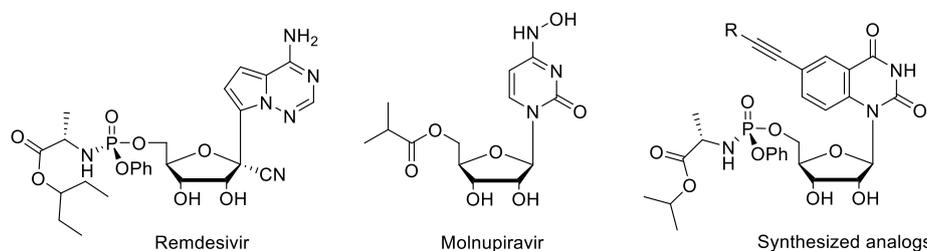


Figure 1. Potent nucleoside inhibitors of SARS-CoV-2 and targeted compounds

We report herein the design and synthesis of various *hitherto unknown* C6-alkynyl-2,4-quinazolidione *N*-1-ribonucleoside phosphoramidates. The synthesis pathway involves three key-steps: (1) the introduction of the nucleobase under Vorbrüggen conditions,³ (2) the modification at C6 position of the quinazolidinedione moiety through microwave-assisted Sonogashira Pd(0) cross-coupling reaction,⁴ and (3) the introduction of the phosphoramidate moiety⁵ at 5'-position in order to reach the prodrug form. All synthesized compounds have been evaluated to determine their activity against SARS-CoV-2. Chemical synthesis and biological data will be presented.

References

- Buonaguro L, Tagliamonte M, Tornesello ML *et al. J. Transl. Med.* **2020**, *18*, 185.
- Li G, De Clercq E *Nat. Rev. Drug Discov.* **2020**, *19*, 149-150.
- Vorbrüggen H, Niedballa U, Krolkiewicz K *et al.* In “*Chemistry and Biology of Nucleosides and Nucleotides*”; Harmon RE, Robins RK, Townsend LB Eds.; Academic: New York, **1978**, 251.
- (a) Agrofoglio LA, Gillaizeau I, Saito Y *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1875-1916. (b) Niemiec E., Bessières M, Roy V, Agrofoglio LA
In “*Microwaves in Drug Discovery and Development: Recent Advances*.”
Future Science Ltd, **2014**, 168-179.
- Mehellou Y, Balzarini J, McGuigan C *ChemMedChem* **2009**, *4*, 1779-1791.

Acknowledgments: MF thanks Région Centre Val de Loire for PhD salary. EHC thanks FeRI2 for generous gratification. This program is supported in part by GAVO MESRI and CNRS funds.

Mots-clés : SARS-CoV-2; nucleoside analogs; Sonogashira; cross-coupling ; prodrugs

Analyse de triglycérides d'échantillons lipidiques végétaux par chromatographie en fluide supercritique couplée à la spectrométrie de masse (SFC-MS)

Quentin Gros^{1,2}, Marta Wolniaczyk³, Caroline West¹, Eric Lesellier¹.

¹: Université d'Orléans, ICOA, CNRS UMR 7311 ; Pôle de chimie, rue de Chartres - BP 6759 45067, Orléans Cedex 2, France.

²: Shimadzu France, Le lizzard 2, Bat A, Bd Salvador Allende Noisiel, 77448 Marne-la-Vallée, France.

³: Faculty of Chemistry, Jagiellonian University, Gronostajowa 2, 30-387 Kraków, Poland

Les huiles végétales sont couramment utilisées en cuisine, cosmétique, comme combustible, et sont obtenues à partir de graines par extraction mécanique ou chimique. Les triglycérides (TG), qui en sont les composés largement majoritaires (>90%), sont engagés dans de nombreux processus métaboliques favorisant la santé humaine. Ils sont constitués de trois chaînes d'acide gras, de longueur et de nombre d'insaturations différent, ce qui multiplie le nombre de ces composés présents dans les huiles végétales. Structurellement proches, ils sont donc difficiles à séparer et à quantifier sous leur forme native.

La composition des triglycérides et leur abondance dans plus de 30 échantillons lipidiques végétaux (huile, macérat, beurre) ont été examinées à l'aide de la chromatographie en phase supercritique ultra-haute performance, couplée à la spectrométrie de masse (SFC-MS). Grâce à la haute sélectivité de cette méthode chromatographique et à la sensibilité de la spectrométrie de masse, des triglycérides structurellement proches ou peu abondants ont été identifiés et quantifiés. Les similarités entre les échantillons ont été comparées par classification ascendante hiérarchique (CAH), mettant en avant ceux dont la composition est proche, qu'ils proviennent de plantes différentes ou de plantes identiques mais aux traitements différents.

Mots-clés : chromatographie en phase supercritique (SFC); spectrométrie de masse; analyse d'huiles végétales; triglycérides.

Protein-Ligand binding affinity prediction using combined molecular dynamics and deep learning approaches

Libouban, PY. ¹, Aci-Sèche, S. ¹, Tresadern, G. ², Bonnet, P. ¹

¹ Institute of Organic and Analytical Chemistry (ICOA), UMR7311, Université d'Orléans, CNRS, Pôle de chimie
rue de chartres - 45067 Orléans Cedex 2, France

² Computational Chemistry, Janssen Research & Development, Janssen Pharmaceutica N. V., B-2340 Beerse,
Belgium

Interactions of small molecules with proteins are essential to pharmaceutical research. Indeed, drugs bind to the active site of proteins, in order to prevent or modulate their interaction with their natural ligands. The stronger a molecule binds to its target, the lower dose is required for its effect, increasing the chance to become a drug.

Although *in vitro* experiments were developed to measure the affinity of protein-ligand complexes, they remain long and expensive. Nowadays artificial intelligence methods, and especially deep learning algorithms, are used to develop statistical models that predict the affinity of these complexes. Current state of the art neural networks use the 3D structures of protein-ligand complexes to predict the binding affinity of complexes. The developed statistical models achieve a correlation coefficient of 0.82. One of the main limitations to improve the statistical models is the lack of structural data, since it requires extensive experimental determination of complexes.

This project aims to improve our ability to predict the binding affinity of protein-ligand complexes using recent deep learning methods. To achieve this goal, we develop a protocol combining deep learning and molecular dynamics (MD) simulations. Additional structures extracted from MD simulations will be used as input for the models. MD simulations will add temporal information and act as a data augmentation tool. We will use a neural network able to analyse both spatial and temporal information, in order to improve model performances.

Synthesis of cyclic dinucleotides as modulators of STING, a pivotal protein in immunity and diseases

Jérémy Magand,¹ Andrea Carolina Ojeda-Porras,¹ Stéphanie Rose,² Valérie Quesniaux,² Vincent Roy,¹ and Luigi A. Agrofoglio¹

¹ICOA, Univ. Orléans, CNRS UMR 7311, 45067 Orléans, France, ²INEM, Univ. Orléans, CNRS UMR 7355, 45071 Orléans
STING protein is a unique and pivotal protein of cGAS-STING signaling pathway [1]; its modulation is involved in immunity and STING is considered as a new attractive target to treat infections [2] and cancers [3]. The cyclic dinucleotide (CDN) 2',3'-GMP-AMP (cGAMP) is the endogenous agonist of STING with known antiviral activities [4] and has served as lead for new CDNs development, such as ADU-S100, (Figure 1) [5-7]. In fact, main limitations of cGAMP are inherent to its physical properties e.g. instability regarding hydrolases and charged linkages. Neutral cGAMP analogues that feature better cellular penetrability and resistance facing hydrolysis are still needed.

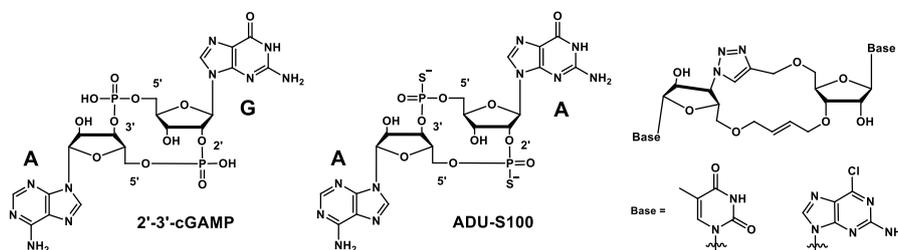


Figure 1. Cyclic dinucleotides modulators of STING and targeted compounds

Herein, we report the design and synthesis of two cGAMP analogues with a triazole and an unsaturated chain as new 3',3'-internucleotide linkages. The convergent synthesis involves as key-step (1) a Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition and (2) a macrocyclisation *via* a ruthenium-catalyzed ring-closing metathesis. The nucleobases were introduced under Vorbrüggen conditions affording original dimeric-like CDNs analogues. All synthesized compounds were evaluated to determine their activity as STING agonist or antagonist by measuring type I interferon induced secretion IP-10 in macrophages; some of them displayed an interesting biological activity which will be presented.

References

- [1] H. Ishikawa, G.N. Barber, STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signaling, *Nature* 2008, 455, 674-678.
- [2] G. Ni, Z. Ma, B. Damania, cGAS and STING: At the intersection of DNA and RNA virus-sensing networks, *PLoS Pathog* 2018, 14 (8), 1007148-1007154.
- [3] J. Le Naour, L. Zitvogel, L. Galluzzi, E. Vacchelli, G. Kroemer, Trial watch: STING agonists in cancer therapy, *Oncolimmunology* 2020, 9 (1), 1777624-1777636.
- [4] C. Ritchie, L. Li, cGAMP as an adjuvant in antiviral vaccines and cancer immunotherapy, *Biochemistry* 2020, 59 (18), 1713-1715.
- [5] Z. Wanga, Z. Xi, Chemical evolution of cyclic dinucleotides: Perspective of the analogs and their preparation, *Tetrahedron* 2021, 87, 132096-132124.
- [6] Y. Liu, X. Lu, N. Qin, Y. Qiao, S. Xing, W. Liu, F. Feng, Z. Liu, H. Sun, STING, a promising target for small molecular immune modulator: A Review, *Euro. J. Med. Chem.* 2021, 211, 113113-113144.
- [7] H. Zhang, Q.D. You, X.L. Xu, Targeting Stimulator of Interferon Genes (STING): A medicinal chemistry perspective, *J. Med. Chem.* 2020, 63, 3785-3816.

Acknowledgements: Authors thanks the European Regional Development Fund (FEDER) and Region Centre Val de Loire for the financial support of EUROFERI program. J. Magand thanks MESRI and UO for PhD salary. A.C. Ojeda-Porras thanks FEDER for her salary.

Key Words: Antiviral activity – Immunotherapy - STING agonists - Cyclic dinucleotides analogues – Nucleosides chemistry

Développement d'une méthode analytique LC-UV pour un nouvel acyclonucléoside phosphonate antiviral

Thomas Mathieu, Yassin El Koulali, Patrick Favetta, Vincent Roy et Luigi A. Agrofoglio

ICOA, Univ. Orléans, CNRS UMR 7311, 45067 Orléans, France

Les nucléosides modifiés représentent une classe majeure de médicaments antiviraux. Parmi eux, les acyclonucléosides phosphonates (ANP), développés en 1986 par A. Holý et E. De Clercq, sont actifs contre divers virus à ADN, ARN et rétrovirus, [1]. Cependant, ces composés souffrent de limitations telles que leur faible pénétration cellulaire et néphrotoxicité et ils ont alors été développés sous forme prodrogue, e.g. bis(POM)PMEA ou Adefovir ou le bis(POC)PMPA ou Ténofovir. Depuis une dizaine d'années, notre groupe a développé une nouvelle famille de ANPs sur la base d'un squelette de type *trans*-but-2-ényl phosphonate. Parmi les nombreux composés synthétisés, le LAVR-289, triple prodrogue, possède des propriétés antivirales remarquables de l'ordre du nM sur plusieurs virus à ADN, [2].

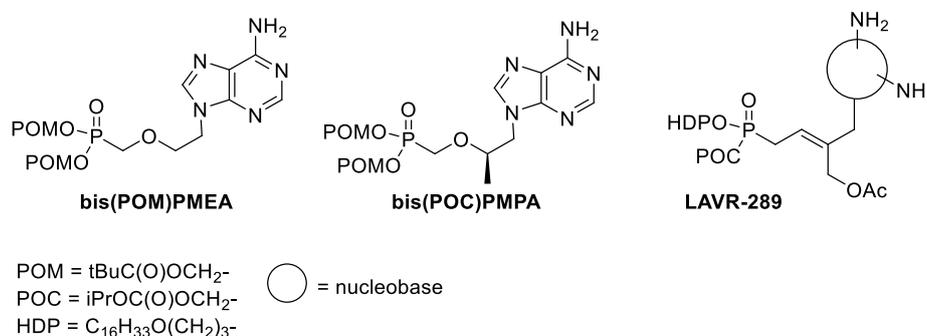


Figure 2. Structure du bis(POM)PMEA, bis(POC)PMPA et du LAVR-289

Dans le cadre du développement préclinique de LAVR-289 et de sa formulation, nous avons alors déterminé son pKa par UV, développé et validé une méthode analytique LC-UV, permettant de suivre ce composé (pureté, stabilité chimique et enzymatique, ...) et d'en déterminer divers paramètres physico-chimiques (Log P/Log D, solubilité, temps de $\frac{1}{2}$ vie plasmatique, ...), [3]. La méthode chromatographique et les données obtenues seront présentées et discutées.

References

- [1] E. De Clercq, A. Hóly, I. Rosenberg, T. Sakuma, J. Balzarini, P.C. Maudgal. A novel selective broad-spectrum anti-DNA virus agent, *Nature* 323 (1986) 464–467.
- [2] L.A. Agrofoglio, V. Roy, C. De Schutter, M. Bessieres, F. Gallardo, New antiviral acyclonucleosides analogues. WO, **2019**, 206907.
- [3] J.P. Hughes, S. Rees, S.B. Kalindjian, K.L. Philpott. Principles of early drug discovery. *British Journal of Pharmacology*, **2011** 162 1239–1249

Acknowledgments: T.MATHIEU thanks Région Centre Val de Loire for PhD salary. Y. EL KOULALI thanks FeRI2 for gratification. This projet is supported by APR-IR FINALS (Région Centre Val de Loire)

Mots-clés : acyclonucléoside phosphonate – méthode analytique – paramètres physico-chimiques

Contribution aux techniques d'apprentissage automatique pour le diagnostic de la gonarthrose

Tinhinane Mehdi^{a,b}, Soraya Aloui^a, Eric Lespessailles^{b,c}, Rachid Jennane^b

a LIMed, Faculté des sciences exactes, Université de Bejaia, Algérie

b Laboratoire I3MTO-EA 4708, Université d'Orléans, France

c CHR Orléans, Service de Rhumatologie, Orléans, France

L'arthrose est la maladie articulaire la plus fréquente, elle est douloureuse et très invalidante. 17% de la population est atteinte dont un tiers avec moins de 40 ans. Après 70 ans, 85% des personnes sont touchées. Comme il n'existe pas de traitement efficace de l'arthrose, à part une chirurgie de remplacement total de l'articulation au stade avancé, un diagnostic précoce reste la seule option disponible pour prolonger les années de vie en bonne santé du patient.

L'examen de référence actuel pour le diagnostic de l'arthrose est l'imagerie par rayons X (radiographie simple) qui est sûre, économique et largement disponible. Kellgren et Lawrence (KL) (1957) ont proposés les premiers critères de classification radiographique pour classer et identifier l'arthrose de KL=0 pour un cas normal à KL=4 pour un cas sévère. Ce score subjectif introduit une ambiguïté et rend le diagnostic de l'arthrose du genou très difficile.

Notre travail de thèse consiste à combiner deux approches. La première est basée sur la réduction de l'interligne et l'apparition d'ostéophytes (Approche forme). La deuxième est basée sur l'extraction de paramètres de texture (Approche texture). Pour ce faire, à l'aide de techniques d'apprentissage profond, nous combinons deux approches qui exploitent les indices de forme et les caractéristiques de texture. Les réseaux de neurones (Siamese-CNN) pour l'extraction des indices de forme et les Auto-Encoders (AE) pour l'extraction des paramètres de texture. Nos expérimentations sont réalisées sur une base publique (OsteoArthritis Initiative). Les premiers résultats obtenus sont encourageants. La précision obtenue a été améliorée en moyenne de 15 % (Approche proposée Acc = 93.75 % , Siamese- CNN Acc = 80.29% et AE Acc = 82.53%)

Mots clés : Apprentissage profond, CNN, Auto-Encoder, arthrose, radiographie.

Environmental toxicants induces neuroinflammation in neural stem cell cultures

Méresse S.¹, de Concini V.¹, Larrigaldie V.¹, Mortaud S.¹

¹ Immunologie et Neurogénétique Expérimentale et Moléculaire, UMR 7355 CNRS - Université d'Orléans, Orléans, France

Context: Environmental pollutants participation on neurodegenerative diseases are suspected but underestimated because studies are often far from the real conditions of exposure (exposome). β -methylamino-L-alanine (L-BMAA) is a cyanobacterial toxin suspected to be implicated in neuropathologies. Furthermore glyphosate (GLY) and ammonium glufosinate (GLA) are herbicides able to interact with biological processes on nervous system because of their molecular structure. Because of their huge utilization they widely participate to eutrophication which leads, in association with climate change, to cyanobacterial blooms. Consequently these three toxic represent a realistic exposome. Early exposure to environmental contaminants can induce inflammatory responses which can permanently alter brain development and confer predispositions to develop various neuropathologies. *In vitro* neural stem cells (NSC) cultures can provide an alternative for studying adverse effects of environmental contaminants on critical neurodevelopmental processes, including cell proliferation and differentiation.

Goal: Our purpose is to determine the ability of these toxicants to induce neurobiological changes effects such as neuroinflammation, using NSC cultures.

Method: NSC and microglial cells were isolated from-subventricular zone from offspring. Cells are then cultivated one week before exposition with low concentration of toxicants alone or in combination (MIX) during one week while astroglial differentiation.

Results: We observed a proliferation of microglial cells populations following cocktail exposure in NSC cultures. This effect was not observed with BMAA alone. Considering that microglial cells play a key role in CNS development we investigated if toxicant induce activation in microglia and also in astrocytes. Interestingly, otherwise BMAA induces a pro-inflammatory status whereas MIX don't. Herein, we want to determine the effects of GLY and GLA alone and which signaling pathways could be affected by exposure to these toxicants.

Keywords: Neural Stem Cells, Neuroinflammation, Exposome

Airway STING priming induced PANoptosis and secondary DNA-mediated, cGAS independent lung inflammation.

Yasmine Messaoud-Nacer^{1,2}, Elodie Culerier^{1,2}, Stéphanie Rose^{1,2}, Isabelle Maillet^{1,2}, Nathalie Rouxel³, Sylain Briault², 45, Bernhard Ryffel^{1,2,3}, Valerie F. J. Quesniaux^{1,2*}, and Dieudonné Togbe^{1,2*}

1 CNRS, UMR7355, Orleans, France.

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

3 Artimmune SAS, rue Buffon, 45071 Orleans-Cedex 2, France.

4 Genetics department, Regional Hospital Orleans (CHRO), Orleans 45100, France.

*Corresponding authors: Dieudonné Togbe (dtogbe@cnrs-orleans.fr), Valérie Quesniaux (quesniaux@cnrs-orleans.fr)

Nucleic acids may act as alarmins when released in the cytosol or extracellular space. They activate nucleic acid sensors such as Stimulator of interferon genes (STING), that contributes to cell death and immune response toward tumors. Dinucleotids or non-nucleotide STING agonists are promising in oncology, and present interesting activity in COVID-19. However, their clinical development is hampered by their limited bioavailability and adverse inflammatory side effects, after systemic or intra-tumor administration. New formulations such as nanoparticles are developed for local delivery in the airways. We showed the critical role of STING pathway in sterile lung inflammation induced by silica exposure, involving airway cell death and self-dsDNA release that triggers STING activation and downstream type I IFN responses. Type I interferons (IFN α/β) are the master immune mediators for protective immunity against viral infections.

Here we address the lung inflammatory response induced by endotracheal administration of natural cyclic dinucleotide cGAMP or synthetic non-nucleotide-based diABZI STING agonists in mice. We show triggering of neutrophilic response in the broncho-alveolar space, extracellular double-stranded DNA (dsDNA) release, neutrophil extracellular traps (NETs) formation, pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF α) release with type I IFN (IFN α/β) response. STING agonists also trigger multiple cell death programs including apoptosis, pyroptosis, necroptosis, indicative of PANoptosis, in vivo but also in vitro in murine bone marrow derived macrophages or human epithelial cells.

These results show that local airway trigger of STING pathway by STING agonists may induce local cell death and local neutrophilic inflammation.

Keys words: DNA sensing, cGAMP, diABZI, lung inflammation, neutrophils, neutrophil extracellular traps, PANoptosis

Nouvelles perspectives en catalyse asymétrique pour la synthèse de nitriles chiraux et son application vers des composés bioactifs

Liliane Mimoun ; Cyril Nicolas ; Isabelle Gillaizeau*

ICOA, UMR7311, Pôle Chimie, Université d'Orléans,
Rue de Chartres, 45100 Orléans

L'objectif de ce projet est de valoriser le potentiel synthétique des nitriles N-métallés, et plus particulièrement des cétènes imine N-métallés, dans la construction innovante, catalytique et asymétrique en une seule étape de stéréocentres quaternaires ou tertiaires à partir de nitriles variés. L'identification de méthodes catalytiques améliorées pour la synthèse énantiosélective de N,O-hétérocycles constitués de plusieurs centres stéréogènes, en tenant compte du concept d'économie d'étapes et de sélectivité, offrira sans aucun doute des opportunités uniques. Les développements méthodologiques impliquant la catalyse duale synergique ainsi que les applications vers les composés bioactifs et/ou naturels sont explorés dans le cadre de ces travaux. Le succès de ce projet permettra d'accomplir un challenge technologique entravant la synthèse de nombreuses cibles moléculaires d'intérêt biologique et de structure complexe azotée et/ou oxygénée.

La spectrométrie infra-rouge un outil puissant pour évaluer la qualité des graines forestières en regard de leurs réserves.

Parisa Savane, Armelle Delile, Nathalie Boizot, Nassim Belmokhtar, Céline Ridet, Marie-Anne Lelu-Walter, Caroline Teyssier

INRAE-ONF UMR 0588 BioForA, Orléans, France

La qualité des graines est cruciale pour s'assurer de l'obtention de plants vigoureux. Cette qualité peut être définie par la capacité germinative et par les réserves contenues dans les graines. Ces réserves sont actuellement évaluées par différentes méthodes de mesure en laboratoire tels que le poids des mille graines et des dosages biochimiques notamment des lipides, des protéines et des glucides. Les méthodes d'évaluation courantes des réserves énergétiques de graines sont fastidieuses, chronophages et nécessitent parfois un nombre conséquent de graines. Il est donc nécessaire de trouver des moyens analytiques plus rapides, d'autant plus que des premiers résultats ont montré que la qualité des graines n'est pas équivalente selon les années de récolte ; aussi il serait intéressant chaque année de pouvoir les caractériser rapidement avant de déclencher la récolte des graines. La spectrométrie infra-rouge (SPIR) se révèle être une solution adaptée à cet emploi notamment par la facilité, rapidité et la fiabilité des mesures qui de plus ne nécessitent que peu de graines. La SPIR permet par mesure de l'absorption de la lumière par l'échantillon, la détection de composés biochimiques marqués par une signature spectrale spécifique. Ainsi la SPIR associée à la chimiométrie peut servir à déterminer qualitativement et quantitativement les réserves des graines et de fait donner une estimation de leur qualité. Grâce aux données spectrales et biochimiques recueillies, des modèles de calibration seront développés pour évaluer les caractéristiques biochimiques des réserves des graines forestières. Cette technique analytique, jusqu'alors utilisée pour déterminer la qualité des produits destinés à la consommation ou pour évaluer la qualité des semences de grandes cultures, constitue une innovation dans le domaine des semences forestières. Par ailleurs les équipements, devenant de plus en plus compacts, laissent envisager une utilisation sur le terrain pour la détermination de la qualité des graines.

Mots-clés : graines, réserves énergétiques, spectrométrie infra-rouge, mélèze

The enzymatically induced lossen rearrangement as a bioconjugation and labeling tool

Tomaš J.¹, Schuler M.¹, Tatibouët A.¹

¹ ICOA-UMR7311, Université d'Orléans, Orléans, France.

Glucosinolates are sulfur-containing secondary metabolites whose structure is based on a beta-D-glucopyranose unit linked through an O-sulfated (Z)-thiohydroximate function to a variable aglycon. They are found in all the cruciferous vegetables, such as broccoli, mustard, rocket, and play an important role in the defence mechanism of these plants against any predators.¹ The hydrolysis of the anomeric C-S bond by myrosinase, a specific β -thioglucosylhydrolase, leads to the formation of isothiocyanate species. Thus, going from stable, non-toxic and water-soluble precursors to a reactive function that is toxic, highly reactive and is in most of cases not soluble in water.⁽²⁾ This unique enzyme-substrate system in Nature can be used as a novel bioconjugational tool for various applications such as synthesis of neoglycoproteins, selective labeling of proteins or nanoparticle functionalization.⁽³⁾

In this communication, we would like to focus on the synthesis of various artificial glucosinolates that might be used in those systems, as well as their hydrolysis with myrosinase. Finally, we will also describe reactivity studies between *in situ* generated isothiocyanates and different nucleophiles – from simple models to more complex biomolecules.

Mots-clés : Glucosinolate, myrosinase, bioconjugation, hydrolysis

References

- (1) Rollin, P.; Tatibouët, A. *C. R. Chimie*, 2011, 14, 194-210.
(2) Fahey, J. W.; Zalcmann, A. T.; Talalay, P. *Phytochemistry* **2001**, 56, 5-51.
(3) (a) Fredy, J. W.; Cutolo, G.; Poret, B.; Nehmé, R.; Hubert-Roux, M.; Gandolfo, P.; Castel, H.; Schuler, M.; Tatibouët, A.; Sabot, C.; Renard, P.-Y. *Bioconjugate Chemistry* **2019**, 30, 1385–1394. (b) G. Cutolo, B. Didak, J. Tomas, B. Roubinet, M.Schuler, P. Lafite, R. Nehmé, L. Landemarre, A.Tatibouët *Glyconjugate*, **2021**, submitted

Vers la synthèse d'alcaloïdes mono-indoliques à activité anti-tumorale

Torun, Damla ; Tiger, Killian ; Lobo, Alexandre ; Gillaizeau, Isabelle

ICOA UMR 7311 CNRS, Pôle Chimie, Université d'Orléans,

Rue de Chartres, 45100 Orléans

Le vieillissement de la population génère une augmentation du nombre de cancer dans le monde ces dernières décennies et amène l'industrie pharmaceutique à produire de grandes quantités d'agents anticancéreux. Les agents cytotoxiques sont parmi les plus utilisés avec comme un de ces blockbusters, la vinblastine. Actuellement extraite de la Pervenche de Madagascar en faible quantité, cette dernière souffre de problèmes d'approvisionnement. Dans le même temps, la récente élucidation complète de sa biosynthèse ouvre la voie à de nouvelles possibilités de production de la vinblastine à travers la bio-ingénierie, et notamment par la biotransformation de la stémmadénine, un intermédiaire de choix, pour la synthèse de cet alcaloïde indolique dimérique en plus grande quantité. Ce sujet vise donc à étudier une approche vers la synthèse totale de ce composé en mettant à profit les opportunités offertes par la biologie de synthèse.

Lectin array for quality control of recombinant therapeutic glycoproteins

Vittoria Federica Vena – Benoît Roubinet – Ludovic Landemarre

GLYcoDiag

Biotherapeutic production often occurs in mammalian, non-human cellular systems that could generate recombinant proteins with variable glycosylation. This affects their therapeutic efficiency, pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety. With the coming age of biosimilars and biobetters, regulatory agencies more and more stress on the importance of ensuring the batch to batch reliability and compare the glycosylation profiles.

Lectin array assay represents a relevant method for the in-process quality control of glycosylation during the research, pre-clinical stages then development and production of recombinant human protein. Lectins recognize and bind to specific glycans on intact glycosylated protein. A limitation is the lack of commercial availability of lectins that specifically recognize unique sugar structures.

We aim to produce lectins for the detection of potential immunogenic glycans like Neu5Gc and α -1,3-Gal epitope. Those lectins are either extracted from natural sources or produced recombinantly in genetically engineered strains of *E. coli*. They are immobilized on a glass slide or 96-well plate to build a lectin array based on the GLYcoDiag technology platform, the GLYcoPROFILE. This method allows a fast and high-throughput screening of the glycan signatures on the recombinant therapeutic proteins, and a quality control from the early research phases to the late stages of production.

Key words : lectin array ; biopharmaceuticals ; glycan profiling ; glycosylation ; therapeutic proteins

Remaniement du cytosquelette d'actine via la voie de signalisation Rho/ROCK/LIMK2/cofiline : mise en évidence d'un nouveau mécanisme de régulation de la cofiline par LIMK2

E. Villalonga¹, C. Chalal¹, D. Cassas¹, M. Doudeau¹, F. Godin¹, H. Bénédicti¹, B. Vallée¹

¹Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), CNRS, ORLEANS, France, ¹¹IRIS, Angers, France

LIM kinase 1 (LIMK1) et LIM kinase 2 (LIMK2) sont des sérine/thréonine et tyrosine kinases qui jouent un rôle crucial dans la dynamique du cytosquelette. Ces kinases phosphorylent la cofiline, un facteur de dépolymérisation de l'actine, et l'inhibe, empêchant/bloquant le remaniement des filaments d'actine. Elles jouent également un rôle dans la dynamique des microtubules par un mécanisme à ce jour inconnu. Du fait de leur rôle clé dans le remaniement du cytosquelette, les LIM kinases sont impliquées dans de nombreux phénomènes physiologiques mais aussi pathologiques, comme le cancer, et elles sont récemment apparues comme des cibles thérapeutiques d'intérêt. Trois isoformes de LIMK2 ont été décrites dans la littérature : LIMK2a, LIMK2b et LIMK2-1. Par rapport à ses homologues, LIMK2-1 a un domaine kinase légèrement plus court et un domaine inhibiteur de la protéine phosphatase 1 (PP1) supplémentaire dans son extrémité C-terminale. LIMK2-1 est incapable de phosphoryler la cofiline bien qu'elle possède la thréonine 505, phosphorylée et activée par la kinase régulatrice ROCK, située en amont de la voie de signalisation (Vallee *et al.*, (2019), *Biochemical Journal*, 475:37453761). Nous avons cherché à comprendre pourquoi LIMK2-1 ne phosphoryle pas la cofiline, et donc à mettre en évidence les déterminants moléculaires nécessaires à la phosphorylation de la cofiline par les LIM kinases. Nous avons montré que l'intégralité du domaine kinase de LIMK2a n'est pas suffisante pour phosphoryler la cofiline et que l'extrémité C-terminale est indispensable pour ce processus. De plus, il est apparu que la phosphorylation de cette extrémité C-terminale est nécessaire à l'activité de LIMK2 sur la cofiline. Par mutagenèse dirigée, nous avons mis en évidence un acide aminé situé dans cette extrémité C-terminale et dont la phosphorylation est requise pour l'activité de LIMK2 sur la cofiline. Ainsi, nos données suggèrent l'existence d'un nouveau mécanisme de régulation de la phosphorylation de la cofiline par les LIM kinases. Nous souhaitons maintenant caractériser ce processus plus précisément.

Mots-clés : LIMK kinases, cofiline, cytosquelette, actine, cancer, neurofibromatose

Large intact biomolecular assembly analysis by NALIM (Native liquid MALDI MS) shows non-covalent Lc binding in mouse IgA

Edison Zhamunqui, Martine Beaufour, Martine Cadene

Centre de Biophysique Moléculaire, UPR4301, CNRS, affiliated to Université d'Orléans, Rue Charles Sadron, 45071, Orléans Cedex 2, France

Structural biology requires tools to integrate information at different scales, from individual molecules of all sizes to large assemblies. Native mass spectrometry (native MS) is a set of methods to analyze biomolecular assemblies directly in an instrument. To this end, complexes are kept in non-denaturing conditions to preserve their three-dimensional structure intact from the sample solution to the gas phase.

MALDI (Matrix-assisted laser desorption-ionization) ionization presents numerous advantages in this context. It is highly tolerant to contaminants and consumes small quantities of sample, making it *de facto* attractive for the native MS analysis of protein complexes. We leveraged these unique MALDI properties to create a new native MS method using liquid spots called Native Liquid MALDI (NALIM) [1]. The success of this method relies on a liquid matrix that enables the gentle transfer of complexes to the gas phase. In NALIM, complexes show up as low charge states (1^+ and 2^+), the monocharged state being largely predominant. Thus, large protein assemblies are observed at high m/z ratios. Since Immunoglobulin A (IgA), a dimer made of 2 Ig chains and a joining J chain, reaches a mass of 320 kDa, it was chosen as a model for medium to large complexes.

Following optimizations of deglycosylation and instrumental parameters for NALIM, intact IgA was detected along with species missing one or more Lc (light chain). While in human IgA, the Lc is always bound to the Hc (heavy chain) via disulfide bridges, in mouse IgA the Lc binds to the Hc in a noncovalent manner [2,3]. NALIM thus clearly shows its ability to conserve non-covalent biomolecular complexes. Further developments will extend the visible window of complexes to the 700-800 kDa range and beyond.

[1] Beaufour, M., Ginguéné, D., Le Meur, R., Castaing, B., and Cadene, M. (2018). Liquid Native MALDI Mass Spectrometry for the Detection of Protein-Protein Complexes. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 29, 1981–1994.

[2] Bharathkar, S.K., Parker, P.W., Malyutin, A.G., Haloi, N., Huey-Tubman, K.E., Tajkhorshid, E., Stadtmueller, B.M. *eLife*. 2020; 9: e56098. doi: 10.7554/eLife.56098

[3] <https://www.uniprot.org/uniprot/P01878>

La chémérine : un marqueur de la qualité du développement embryonnaire et un potentiel critère de sélection génétique chez les oiseaux

Ophélie Bernardi^{1,2}, Maxime Reverchon², Christelle Ramé¹, Joëlle Dupont¹

¹ INRAE UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France

² SYSAAF-Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français, Centre INRAE Val de Loire, F-37380 Nouzilly, France

Avec l'accroissement de la production mondiale de viande de volaille, une des problématiques pour les entreprises de sélections avicoles est la production de poussins viables et robustes. En effet, la mortalité embryonnaire peut atteindre 40% selon l'espèce. Ainsi, l'identification de biomarqueurs du développement embryonnaire et leur utilité pour la sélection génétique devient un enjeu pour améliorer les performances de reproduction. Dans le cadre de ce projet, nous nous sommes focalisés sur la chémérine en tant que potentiel critère de sélection. Cette hormone protéique exprimée par le tissu adipeux est impliquée dans le système immunitaire, le métabolisme et la fonction de reproduction. Chez les oiseaux, la chémérine a récemment été identifiée au niveau du magnum de l'oviducte, du blanc et des membranes vitellines de l'oeuf. Des résultats préliminaires ont montré que l'injection *in ovo* dans l'albumen d'anticorps anti-chémérine entraîne la mort de 35% des embryons. Ces données suggèrent un rôle de la chémérine durant la période embryonnaire aviaire. Pour qu'un marqueur soit un bon critère de sélection, il doit être mesurable à haut débit, fiable et présentant des corrélations avec les performances de reproduction. Pour que la sélection soit possible, il doit aussi être stable chez un même individu et variable dans la population. Nous souhaitons vérifier ces critères pour la quantité de chémérine dans l'albumen et le plasma sanguin chez des lignées de poules expérimentales.

Pour cela, nous avons récupéré des échantillons d'albumen sur une semaine de ponte et de plasma pour doser la chémérine par ELISA et Western-blot. Sur une semaine de ponte, l'expression de chémérine plasmatique était variable entre les différentes lignées de poules. Tandis qu'au niveau de l'albumen, une même poule présente des taux de chémérine homogènes sur une semaine de ponte. Mais pour une même lignée, des profils d'expression de chémérine se discriminent avec des poules ayant des taux élevés/faibles de chémérine dans l'albumen. Il y a une plus forte variabilité dans la population qu'au sein d'une même poule suggérant une possibilité de faire des groupes d'individus à forte et faible quantité de chémérine. Il reste néanmoins à déterminer les variations de chémérine au niveau plasmatique et de l'albumen au cours du cycle de ponte et également à la génération suivante.

Mots-clés : chémérine, albumen, sélection, variabilité, oiseaux

Le FGF21 : Une hormone du métabolisme impliquée dans la reproduction chez l'Homme ?

Bourdon Guillaume¹, Estienne Anthony¹, Chevaleryre Claire¹, Rame Christelle¹, Guérif Fabrice², Brun Jean-Sebastien³, Vasseur Claudine³, Fromont Gaëlle⁴, Ingrid Plotton⁵, Dufour Diane⁶, Erika Caldas-Silveira¹, Dupont Joëlle¹, Froment Pascal¹ and Ducluzeau Pierre-Henri^{1,7}.

1. INRAE, UMR 85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France. 2. Service de Médecine et Biologie de la Reproduction, CHRU de Tours, F-37044 Tours, France. 3. Centre de fertilité, Pôle Santé Léonard de Vinci, F-37170 Chambray-lès-Tours, France. 4. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHRU de Tours, F-37044 Tours, France. 5. Molecular Endocrinology and Rare Diseases, University Hospital, Claude Bernard Lyon 1 University, Bron, France. 6. Laboratoire de Médecine Nucléaire in vitro, CHRU de Tours, F-37044 Tours, France. 7. Unité d'endocrinologie-diabétologie-nutrition, CHRU de Tours, F-37044 Tours, France.

L'infertilité est un problème de santé publique qui ne cesse de croître dans nos sociétés actuelles et qui concerne environ 15% des couples en âge de procréer. Chez les patients atteints de troubles du métabolisme (obésité et anorexie), on observe une augmentation de problèmes reproducteurs. Plusieurs hormones ont montré leurs implications entre le métabolisme énergétique et la fertilité, notamment, le *Fibroblast Growth Factor 21* (FGF21). Découverte par Nishimura *et coll.*, en 2000, cette protéine a montré son importance dans la régulation du métabolisme glucido-lipidique. Les dosages plasmatiques ont mis en évidence la présence de taux anormaux de FGF21 chez les sujets atteints d'obésité et d'anorexie, comparés à des sujets de poids « normal ». Au niveau du liquide séminal nous avons mis en évidence la présence de FGF21. Cette découverte nous a amené à nous questionner sur le potentiel rôle de cette hormone sur la fertilité masculine. Au niveau du spermatozoïde, les récepteurs du FGF21 (FGFR1 et 3) sont colocalisés avec le cofacteur KLB, nécessaire à la transduction du signal FGF21, au niveau de la pièce intermédiaire. Ce site est le lieu où se concentrent les mitochondries, qui sont essentielles pour assurer le mouvement flagellaire. L'apport de FGF21 à doses croissantes sur du sperme frais augmente de manière significative la motilité spermatique. Un des mécanismes d'action du FGF21 est d'activer les voies de signalisation Akt et ERK. Il favorise l'entrée de Ca²⁺ et les productions d'ATP et d'AMPc. Le FGF21 joue ainsi un rôle dans la qualité spermatique et de nouvelles investigations sont nécessaires pour le caractériser.

Mots clés : FGF21 ; FGFR1 ; FGFR3 ; Sperme ; Motilité

Fibronectin type III domain-containing (FNDCs) : Facteurs clés dans le métabolisme énergétique et les fonctions ovariennes chez la vache laitière ?

Daudon Mathilde^{1,2}, Ramé Christelle¹, Dupont Joëlle¹, Price Christopher A.²

1 : INRA UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France.

2 : Centre de Recherche en Reproduction Animale, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec J2S 7C6, Canada.

Depuis plusieurs années, nous constatons une baisse importante de la fertilité des vaches laitières hautes productrices qui s'explique en partie par un épuisement des réserves énergétiques pendant la lactation. Durant ce processus, l'apport énergétique est souvent inférieur à l'énergie dépensée et il y a une forte mobilisation du tissu adipeux. De ce fait, les vaches en lactation sont en bilan énergétique négatif (NEB). Cette mobilisation est régulée par de nombreuses hormones dont les adipokines. Parmi celles-ci, les FNDCs (Fibronectin type III domain-containing) de type 3A et B, 4 et 5 pourraient intervenir non seulement dans la régulation du métabolisme énergétique chez la vache mais aussi dans l'interaction métabolisme-reproduction. Nos premiers résultats suggèrent que les FNDCs sont impliqués dans la forte mobilisation des réserves durant la lactation mais également durant la croissance musculaire chez la vache laitière Holstein. Nous avons également observé la présence des FNDCs au niveau ovarien et notamment dans les cellules de granulosa bovines. Pour aller plus loin, cette étude nécessite d'étudier la présence des FNDCs au niveau plasmatique.

Si ce n'est pas ici, c'est là-bas : La poule domestique est capable de raisonner par exclusion dans un contexte de recherche alimentaire

Rachel Degrande¹, Fabien Cornilleau¹, Léa Lansade¹, Ludovic Calandreau¹

1 : CNRS, IFEC, INRAE, Université de Tours, PRC, F-37380, Nouzilly, France

La nouvelle définition de l'ANSES (2018) concernant le bien-être animal met en valeur la nécessité de répondre aux besoins psychologiques des animaux. Afin d'améliorer au mieux les pratiques d'élevages, il est donc nécessaire d'explorer l'étendue de leurs capacités cognitives, c'est-à-dire la manière dont ils perçoivent et comprennent leur environnement. La capacité d'inférence par exclusion est une capacité cognitive complexe qui demande un raisonnement de la part de l'animal, et qui a été montré chez plusieurs espèces (primates, chiens, rats, chèvres et oiseaux : pigeons, corbeaux, perroquets). Le principe en est que lors de la présentation de deux objets A et B, étant donné l'absence de récompense dans A, l'animal déduit que la récompense se trouve dans B. Nous avons testé cette capacité chez la poule domestique. Treize poules ont été entraînées à retrouver des vers de farine dans un des deux tubes disposés dans une arène de test. Lors du test, les deux tubes sont disposés de sorte que la poule puisse voir que les vers ne sont pas dans le tube A (intérieur visible) ; mais elle ne voit pas qu'ils sont dans le tube B (intérieur invisible). Nos résultats montrent que lorsqu'elles sont libres d'explorer les deux tubes sans contraintes, les poules ont tendance à se diriger préférentiellement vers le tube dont l'intérieur est visible, même s'il est vide. Au contraire, lorsqu'elles sont contraintes à une seule visite, deux-tiers des poules montrent un raisonnement par exclusion. A notre connaissance, ce résultat est une première démonstration que la poule domestique possède la capacité de raisonner par exclusion. Ces travaux ouvrent la voie à l'approfondissement des recherches sur les capacités de raisonnement de la poule afin de mieux comprendre son univers mental.

La signature chimique du nid du frelon asiatique *Vespa velutina nigrithorax*

Haouzi Mélissa¹, Gévar Jérémy², Khalil Alix¹ et Darrouzet Éric¹

¹ IRBI, CNRS 7261, Université de Tours, Parc de Grandmont, 37200 Tours

² iEES Paris, INRA, 78026 Versailles

Chez les insectes, la communication chimique est la forme de communication la plus répandue. Les hydrocarbures cuticulaires (CHCs) forment un complexe de composés non volatils essentiels à la protection des insectes contre la dessiccation, et ils sont également impliqués dans les processus de reconnaissance inter- et intra- spécifiques. Ces CHCs forment la signature chimique des individus et ils peuvent également être déposés sur la surface des nids. Les CHCs seront alors utilisés comme référence par les jeunes adultes afin d'acquérir la signature chimique coloniale. Notre étude avait pour but d'analyser la signature chimique des nids du frelon asiatique *Vespa velutina nigrithorax*. Les nids, formés à partir de fibres végétales mélangées à de la salive, sont composés de différentes structures : les galettes abritant le couvain sont reliées par des piliers, et l'ensemble est recouvert d'une enveloppe protectrice. Les résultats de cette étude montrent que (1) les différentes structures du nid contiennent des hydrocarbures comparables aux CHCs présents sur la cuticule des frelons, (2) les structures analysées présentent des profils chimiques distincts, et (3) chaque nid présente une signature spécifique coloniale. L'hétérogénéité de la signature chimique déjà observée sur ces insectes, est également présente au sein de ses nids. Malgré la perte de diversité génétique chez cette espèce invasive, nous constatons donc une importante diversité chimique qui pourrait être expliquée par des facteurs environnementaux et/ou épigénétiques.

Mots-clés : hydrocarbures cuticulaires, marquage chimique, insectes sociaux, Hyménoptères

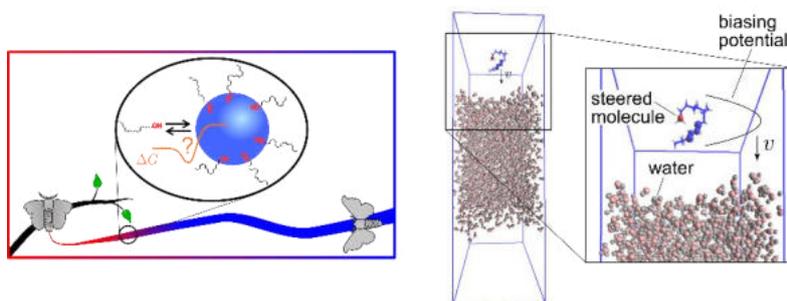
Phénomènes physico-chimiques dans le transport atmosphérique des phéromones

Ludovic Jami^{1,2}, Thomas Zemb², Jean-François Dufrêche², Jérôme Casas¹

¹ Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, Université François Rabelais, 37000 Tours

² ICSM. Univ. Montpellier. CEA. CNRS. ENSCM. Marcoule. France.

La communication chimique dans l'atmosphère est centrale pour de nombreux insectes et plantes mais la compréhension complète du parcours emprunté par ces molécules-signal n'est pas atteinte. Des lacunes persistent dans notre compréhension du comportement physico-chimique de ces molécules dans l'air. Le rôle des équilibres de phase, de l'adsorption sur les surfaces ou de la réactivité des phéromones dans l'atmosphère est encore peu connu. Nous nous intéresserons ici en particulier à l'adsorption des phéromones sur les aérosols, les phéromones pouvant ainsi être transportées sur de longues distances de manière groupées. Nous verrons comment la modélisation de ces mécanismes, de l'échelle moléculaire à celle de la communication chimique, nous permet de quantifier l'importance de ces effets et de mieux rendre compte de la complexité de la communication phéromonale dans les écosystèmes.



Mots-clés : Adsorption, phéromones, aérosols, écologie chimique, dynamique moléculaire, modèle de transport

Analyse comparative de la performance de la thermogénèse et des odeurs chez deux espèces d'Arum sympatriques

Mathieu LECLERC¹, Marc GIBERNAU², Elfie PERDEREAU¹, Sylvain PINCEBOURDE¹

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

² Laboratoire Sciences Pour l'Environnement, UMR 6134, CNRS- Université de Corse, Ajaccio, France

La capacité des plantes à attirer leurs pollinisateurs est primordiale pour le maintien des populations des plantes à fleurs. Dans le catalogue des stratégies d'attraction développées par les plantes, certaines plantes à fleurs ont la capacité de produire de la chaleur (thermogénèse) dans le but de faciliter l'attraction des pollinisateurs. C'est le cas de certaines espèces de la famille Araceae comme *Arum maculatum* et *A. italicum*, que nous retrouvons en France. Ces espèces trompent leurs pollinisateurs principaux (diptères du genre *Psychoda*) en imitant l'odeur de leurs sites de ponte et en les piégeant dans leur chambre florale de façon temporaire où ils sont soumis à la thermogénèse de la fleur. Des variations géographiques et interannuelles des odeurs attractives ont été relevées dans quelques populations d'*A. maculatum* ou *A. italicum*, mais une analyse comparative de la performance thermogénétique des deux espèces n'a encore jamais été réalisée. Dans cette étude, nous avons comparé directement les odeurs et les patterns de thermogénèse des deux espèces d'Arum vivant en sympatrie. Cette étude intégrative, mêlant chimie des volatiles et physique de la production de chaleur, montre à quel point une même stratégie d'attraction peut varier entre espèces végétales pollinisées par les mêmes insectes. Nos études se focalisent désormais sur les conséquences des changements environnementaux sur la pollinisation de ces plantes en considérant cette variabilité dans leur stratégie d'attraction.

Mots-clés : Pollinisation, *Arum italicum*, *Arum maculatum*, VOCs, écologie thermique

Impact d'un herbicide à base de glyphosate sur les fonctions des cellules de la granulosa humaine

Loïse Serra¹, Aikaterini Kallianioti¹, Anthony Estienne¹, Christelle Ramé¹, Claire Chevaleyre¹, Fabrice Guérif², Pascal Froment¹, Joëlle Dupont¹

¹ INRAE, UMR 85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Equipe SENSOR, F-37380 Nouzilly,

² Service de Médecine et Biologie de la Reproduction, CHRU de Tours, F-37044 Tours, France

Le glyphosate (G) compose des herbicides tels que le Roundup (R). Agissant principalement sur la voie des shikimates, non présente chez les vertébrés, il est utilisé en agriculture. Depuis quelques années, de plus en plus d'études sur les herbicides à base de glyphosate (HBG) et leur potentiel de perturbateurs endocriniens apparaissent. Des études *in vivo* et *in vitro* sur l'ovine, le bovin, le porc ou les rongeurs montrent que les HBG diminuent la viabilité (V) et la prolifération cellulaire (PC) des cellules de la granulosa (CG) importantes pour la croissance et la maturation ovocytaire. De plus, une altération de l'activité des enzymes de la stéroïdogénèse (S) a été rapportée dans ces espèces. Aucune étude à ce jour n'a été réalisée sur les CG humaines (CGH) en termes de V, de PC et d'impact des HBG sur la S. Nous avons travaillé sur 2 lignées de CGH, les KGN, gardant les récepteurs à la FSH et aux œstrogènes, et les Cov-434, permettant d'observer les interactions cellule-cellule, ainsi que sur des cellules primaires (CP) provenant de femmes en parcours de procréation médicalement assistée (PMA) pour cause d'infertilité masculine. Après 24H de culture, les CGH ont été stimulées avec du R Gallup360 à des doses, en équivalent G, allant de 3,6 µg/L à 36 g/L comprenant les concentrations retrouvées dans les urines et le liquide folliculaire (µg/L) et utilisées dans l'agriculture (g/L). Nous avons réalisé des tests colorimétriques de viabilité (CCK-8) et de prolifération (BrdU) sur les CGH ainsi que des extractions ARN et PCR en temps réel, sur les KGN, afin d'analyser l'expression de gènes de la S pouvant être influencée par le R. Le R diminue la V et de la PC chez les KGN et cov-434 dès 1,8 g/L et 360 mg/L respectivement, et dès 3,6 mg/L pour la V et 36 mg/L pour la PC des CP. Aucune différence significative n'est démontrée pour l'expression du gène codant pour le transporteur StAR mais une diminution de l'expression des gènes codant pour la 3βHSD, CYP17A1 et P450 aromatasase est observée. Cette étude montre un impact négatif du R sur la V et la PC des CGH ainsi qu'une altération de leur fonction de S.

Mots-clés : Herbicides, Glyphosate, Roundup, Granulosa, Stéroïdogénèse, Viabilité, Prolifération.

Le bisphénol S perturbe la stéroïdogénèse des cellules de granulosa humaines et ovines

Ophélie Tégeau¹, Sarah Amar^{1,2}, Manon Jaubert¹, Aurélien Binet^{1,2}, Alice Desmarchais¹, Pascal Papillier¹, Claire Vignault^{1,3}, Virginie Maillard¹, Fabrice Guérif^{1,3}, Sébastien Elis¹

¹ CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, F-37380, Nouzilly, France

² Service de Chirurgie pédiatrique viscérale, urologique, plastique et brûlés, CHRU de Tours, 37000 Tours, France

³ Service de Médecine et Biologie de la Reproduction, CHRU de Tours, 37000 Tours, France

Les **cellules de granulosa** (CG) sécrètent de la progestérone et de l'**œstradiol**. Ces stéroïdes, sécrétés dans le liquide folliculaire (LF), jouent un rôle fondamental pour la croissance et la maturation de l'ovocyte. Le **bisphénol A** (BPA), un plastifiant utilisé dans les contenants alimentaires, peut migrer vers les aliments, et atteindre, par ingestion, les fluides biologiques (LF, urine...). Le BPA est un **œstrogénomimétique**, classé perturbateur endocrinien (2015) pour ses effets délétères sur la reproduction mâle et femelle. Son principal remplaçant est le **bisphénol S** (BPS). Cet analogue structural est à son tour retrouvé dans le LF des femmes. Le **modèle brebis** est utilisé pour des études sur la reproduction de la femme et les perturbateurs endocriniens, puisque les CG humaines (CGH) sont précieuses, et moins simples d'accès que les CG ovines (CGO). L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets du BPS, et ses mécanismes d'action, sur les CGH et en parallèle sur le modèle de CGO.

Après ponctions folliculaires, chez la femme en assistance médicale à la procréation, ou chez la brebis sur ovaires d'abattoirs, les CG ont été collectées, purifiées et traitées dans du milieu McCoy's 5A complété sans sérum, avec du BPS (1 μ M, 10 μ M ou 50 μ M) pendant 48 h. Nous avons analysé la viabilité des CG (test d'activité adénylate kinase) et la prolifération (incorporation de BrDU), la sécrétion d'œstradiol et de progestérone (test ELISA), l'expression génique des récepteurs hormonaux (PCR quantitative), l'expression protéique des enzymes stéroïdogènes et de la voie de signalisation MAPK3/1 (Western Blot).

Le BPS n'a pas affecté la viabilité et la prolifération cellulaire, la phosphorylation de MAPK3/1 ou l'expression protéique des enzymes stéroïdogènes. En revanche, le BPS 10 μ M a significativement diminué la sécrétion de progestérone des CGH (16 % ; $p = 0,006$) et CGO (22 % ; $p = 0,040$) par rapport au témoin, sans affecter significativement l'expression génique de son récepteur (PR). Néanmoins, le BPS 50 μ M a provoqué une diminution avec les CGH (46 % ; $p < 0,0001$), et une augmentation avec les CGO (347 % ; $p = 0,001$) de la sécrétion d'œstradiol.

Ainsi, **les effets du BPS** apparaissent **néfastes et similaires** sur les **CGH** et le modèle de **CGO**, à l'exception de la sécrétion d'œstradiol, probablement en raison des traitements de super-ovulation des patientes. Nos données ont confirmé que la brebis est un modèle pertinent, en terme de sensibilité au BPS, pour la reproduction de la femme. Les CGO vont nous permettre d'étudier plus en détail les mécanismes d'action mis en jeu par le BPS sur la reproduction femelle.

Ce projet est financé par l'INRAE, la région Centre Val-de-Loire (projet BEMOL) et l'Agence Nationale de la Recherche Française (projet ANR-19-CE34-0011-01 MAMBO).

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

Coopération entre les anticorps de thrombopénie induite par l'héparine : impact sur l'activation cellulaire et le risque thrombotique

Sandra Billy et Jérôme Rollin

EA 7501 GICC, ERL 7001, équipe FRAME, Tours

Les thrombopénies induites par l'héparine ou TIH, sont des complications rares mais graves des traitements par l'héparine. Elles sont dues au développement d'anticorps dirigés contre le facteur plaquettaire 4 modifié par l'héparine (Ac anti-FP4/H) qui activent les plaquettes, les monocytes et les neutrophiles via le récepteur Fc γ R1IA. Cette activation multicellulaire induit un état d'hypercoagulabilité responsable de complications thrombotiques. Les patients développent classiquement des Ac anti-PF4/H mais certains développent aussi de faible quantité d'anticorps atypiques capables de reconnaître le FP4 non-modifié par l'héparine (Ac anti-FP4). Le rôle de ces Ac anti-PF4 dans la physiopathologie des TIH est encore peu connu notamment vis-à-vis du risque de thrombose associé aux TIH.

Dans ce contexte, la coopération entre les Ac anti-FP4/H et anti-FP4 sur l'activation cellulaire et la formation de thrombose a été évaluée. Pour cela, deux anticorps monoclonaux anti-FP4/H (5B9) et anti-FP4 (1E12) qui miment les anticorps développés chez les patients ont été utilisés. Nous avons montré que l'incubation simultanée de 5B9 (10 μ g/mL) et 1E12 (0,5 μ g/mL) avec des plaquettes isolées de sujets sains induit une activation plaquettaire en l'absence d'héparine alors que ces anticorps incubés séparément n'ont aucun effet à ces concentrations. Cet effet coopérateur a également été observé sur l'agrégation des plaquettes en sang total et est complètement inhibé par l'anticorps IV.3 qui bloque le récepteur Fc γ R1IA. De plus, l'incubation simultanée de 5B9 (100 μ g/ml) et 1E12 (2 μ g/ml) dans du sang de sujets sains, induit la formation de thrombus en conditions de flux alors qu'aucun effet n'est observé lorsque ces anticorps sont incubés séparément.

L'ensemble de ces résultats montrent pour la première fois une coopération fonctionnelle entre les différents types d'anticorps de TIH. Bien que les mécanismes moléculaire et cellulaire de cette synergie restent encore inconnus, la présence concomitante de ces deux types d'anticorps pourrait chez certains patients augmenter le risque de complication thrombotique même après l'arrêt de l'héparine.

Mots-clés : Thromboses, Thrombopénies induites par l'héparine, Anticorps monoclonaux.

Réponse immunitaire sous immunothérapie dans le cancer pulmonaire non à petites cellules métastatique : étude d'expectorations et de prélèvements sanguins

M. FERREIRA^{1,2,3}, T. SECHER^{1,2}, N. HEUZE-VOURC'H^{1,2,3}

1 INSERM, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, U1100, Tours; 2 Faculté de Médecine, Université de Tours; 3 CHRU de Tours, Département de Pneumologie et Explorations fonctionnelles Respiratoires

Introduction : Les inhibiteurs de checkpoint (ICI) ont permis d'améliorer le pronostic des cancers bronchiques métastatiques, mais avec seulement 20 à 40% de réponse. La sélection des patients se fait sur l'expression de PD-L1 par la tumeur, dont l'analyse pose plusieurs problèmes : 1/ son hétérogénéité spatiale, 2/ sa variabilité temporelle, 3/ son absence de spécificité pour identifier les patients répondeurs et 4/ sa réalisation à partir de biopsies au diagnostic, ne pouvant être répétée. Les fluides biologiques constituent une ressource intéressante pour le suivi longitudinal des patients. L'étude de la réponse immunitaire sous ICI pourrait permettre d'identifier des biomarqueurs de réponse. Dans ce projet, nous proposons d'analyser les cellules immunitaires des patients sous ICI dans le sang et les expectorations.

Méthodes : L'objectif est de décrire la réponse immunitaire antitumorale locale et systémique de patients répondeurs ou non aux ICI. Nous incluons des patients avec un adénocarcinome bronchique, naïfs de traitement, lors de la 1^{ère} perfusion d'ICI. Nous recueillerons à différents temps des prélèvements sanguins et des expectorations afin de quantifier les populations cellulaires impliqués dans la réponse aux ICI. Nous isolerons les cellules mononucléées sanguines et des expectorations et les quantifierons par cytométrie en flux. Nous axerons nos analyses sur les lymphocytes T résidents mémoires et les lymphocytes T non conventionnels. Nous évaluerons aussi leur production de cytokines et leur profil fonctionnel par re-stimulation.

Conclusion : Cette étude permettra de déterminer l'intérêt des expectorations pour suivre la réponse immunitaire des patients atteints d'un adénocarcinome sous ICI et de déterminer s'il existe une réponse immunitaire spécifique des patients selon leur profil de réponse.

Conception de radiopharmaceutique TEP fluorés ciblant AhR : Application en oncologie et neuropsychiatrie

Simon Garnier⁽¹⁾, Patrick Emond⁽²⁾, Sylvie Chalon⁽²⁾,
Sylvain Routier⁽¹⁾, Johnny Vercouillie⁽²⁾ and Frédéric Buron⁽¹⁾

⁽¹⁾ ICOA - CNRS UMR 7311 - Université d'Orléans, Pôle de Chimie - 45100 Orléans, France.

⁽²⁾ Inserm U1253, Imagerie et Cerveau (iBrain), Université de Tours, France.

Le récepteur aux hydrocarbures aromatiques (AhR) est un facteur de transcription cytoplasmique connu pour son rôle de régulation des effets toxiques de polluants. Par la fixation d'un ligand, AhR influence une large gamme de fonctions immunitaires, pro et anti-inflammatoire. Ainsi, de récentes études ont montré qu'AhR peut contrôler la sévérité de maladies immunitaires, qu'il est un marqueur des processus inflammatoires exprimés notamment dans différents types de cancers (sein, poumon, foie...) mais aussi dans certains troubles psychiatriques (schizophrénie, dépression sévère...). C'est sur ces bases que nous avons choisi de travailler au développement de sondes compagnons diagnostic en quantifiant l'expression d'AhR par le biais de l'imagerie ¹⁸F TEP (Tomographie par Emission de Positons). Cette stratégie permettrait de réaliser un diagnostic précoce de ces pathologies et un suivi précis de l'efficacité des traitements.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons synthétisé de nouveaux ligands fluorés d'AhR qui seront transposés en radiopharmaceutiques ¹⁸F TEP. De nouvelles méthodologies de synthèse sur des hétérocycles originaux ont été investiguées pour atteindre les molécules ciblées. La synthèse de nos composés originaux et leur activité seront présentés dans cette communication.

Mots clés : Radiopharmaceutique, ¹⁸F TEP, AhR, Méthodologie de synthèse, Chimie médicinale

Optimization of Transcranial Focused Ultrasound (US) in the Case of an Animal Model of Autism Spectrum Disorder: Study of US Effect and Safety

Zahraa JISHI^{1,2,&}, Khawla OLLEIK^{1,&}, Yassine MOFID¹, Mohamad NASSEREDINE², Jamal CHARARA², Alexandre SURGET^{1*}, Ayache BOUAKAZ^{1*}

¹ University of Tours, Tours, France

² Lebanese University, Beirut, Lebanon

* Corresponding Authors: Alexandre SURGET, Ayache BOUAKAZ

& ZJ and KO contributes equally to this work

Autism Spectrum Disorder is a heterogeneous neurodevelopmental disorder characterized by social interaction and social communication deficits in addition to restricted and repetitive patterns of behavior. Nowadays, brain stimulation techniques are applied widely in research and clinical practices for the treatment of neuropsychiatric disorders. But due to limitations of currently used neurostimulation techniques such as transcranial Magnetic Stimulation (TMS) and transcranial Direct Current Stimulation (tDCS), transcranial Focused Ultrasound arises as a non-invasive neurostimulation technique with high spatial resolution and the ability to access deep brain areas. We aim to explore and optimize the potential of transcranial Focused Ultrasound Stimulation (tFUS) in the case of ASD, which was not done before. The main idea is to study the effects of ultrasound neurostimulation in animal models of ASD representing different symptomatic dimensions, explore and acquire new knowledge about the effectiveness of ultrasound neurostimulation by behavioral testing and immunohistochemistry. We have established an environmental model of ASD by intoxication with Valproate (VPA), and it showed that there is a significant difference in behavior between controls and treated mice in repetitive and stereotypic behavior but it was not very obvious in social behavior. Since the VPA model did not exhibit typical autistic-like behavior, and as a result we found no significant effect of ultrasound stimulation on the behavior, we aim to examine the effect of tFUS on another model of ASD, a transgenic model with strong face validity. The target of this work will provide an insight into potential therapeutics for ASD.

Membrane de peau synthétique Strat-M™ et tests de pénétration

Hichem Kichou¹, Yuri Dancik^{1,2}, Martin Soucé¹, Xavier Perse¹, Igor Hourpa¹, Emilie Munnier¹, Franck Bonnier¹,

¹ Université de Tours, EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Faculté de Pharmacie, Tours, France

² LE STUDIUM Loire Valley Institute of Advanced Studies, Orléans, France

Le Strat-M™ est une membrane synthétique à base de polymères avec une couche superficielle très compacte qui simule l'aspect lipidique de la peau humaine. Elle s'est avérée être une alternative appropriée à la peau humaine. Les membranes Strat-M™ sont encore relativement peu étudiées, notamment dans les applications visant à comparer différentes formulations topiques. L'objectif de cette étude est le développement d'un protocole expérimental complet pour l'étude des cinétiques de pénétration des actifs cosmétiques avec ces membranes en utilisant le dispositif des cellules de Franz comparées à la peau humaine et aux modèles RHE (Reconstructed Human Epidermis). La résorcine ($\log P = 0,07$, $MW = 110,11 \text{ g / mol}$), a été sélectionnée pour cette étude. Différentes formulations ont été étudiées : une solution aqueuse (PBS), un hydrogel et une émulsion [H / E]. Dans cette étude, deux protocoles analytiques ont été développés : 1/ chromatographie liquide à haute performance (CLHP) (méthode classique), 2/ microscopie confocale Raman (MCR). Nos données suggèrent que les Strat-M™ ont une grande perméabilité aux molécules hydrophiles telles que le résorcinol par rapport à la peau humaine excisée et au EpiSkin® RHE. Les membranes Strat-M™ restent peu référencées dans la littérature, ce qui limite les points de comparaison avec d'autres études. Le MCR nous a permis d'avoir des informations sur la dynamique moléculaire de la pénétration et sur la distribution de l'actif dans les différentes couches de la membrane. Les Strat-M™ sont des modèles adaptés pour le criblage en amont de nouveaux actifs et le test de nouvelles formules.

Target-mediated pharmacokinetics of cetuximab: target occupancy influences progression-free survival

Sarah LOBET¹, Gilles PAINAUD^{2,3}, Nicolas AZZOPARDI⁴, Christophe PASSOT⁵, Morgane CAULET⁶, Romain CHAUTARD^{1,6}, Celine DESVIGNES^{2,3}, Olivier CAPITAIN⁵, David TOUGERON⁷, Michelle BOISDRON⁵, Thierry LECOMTE^{1,6}, David TERNANT^{2,3}

1. Tours University, Inserm UMR 1069, Nutrition Croissance et Cancer (N2C), Tours, France
2. Tours University, EA4245 Transplantation, Immunologie, Inflammation, Tours, France.
3. Pharmacology Department, Tours University Hospital, Tours, France.
4. Tours University, EA7501 GICC, Team PATCH, Tours, France, Tours, France.
5. Oncopharmacology - Department INSERM U892, Institut de Cancérologie de l'Ouest site Paul Papin, Angers, France.
6. Gastroenterology and Digestive oncology Department, Tours University Hospital, Tours, France.
7. Gastroenterology Department, Poitiers University Hospital, Poitiers, France.

Cetuximab has been approved for the treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC). The pharmacokinetics (PK) of cetuximab has a nonlinear elimination due to the turnover of EGFR.

This study aimed at investigating target-mediated PK (TMPK) of cetuximab, the relationship between unbound/baseline EGFR ratio (RR) and progression free survival (PFS), and the impact of dosage adjustments.

Methods : 91 patients with mCRC were enrolled in a retrospective multicenter phase II study evaluating FOLFIRI-cetuximab regimens. Concentration-time data were analysed using a population approach. The association between RR and PFS was investigated by comparison of the inter-patient distribution of time spent below a fixed value of RR within 84 days (TRR₈₄) using a logrank test. Several dosing strategies were simulated and corresponding TRR₈₄ distributions were computed.

Results : This is the first study describing TMPK of cetuximab using a QSS TMDD model. Our model allowed quantifying EGFR kinetics over time, which was associated to PFS. Highest logrank statistic was reached for RR=0.4%. PFS was higher in patients with TRR₈₄ inferior to its median value (TRR_{84med}=58 days) than others. Our simulations suggested that a 500mg/m² Q2W regimen could be used instead of 250mg/m² QW in some patients.

Mots-clés : Cetuximab ; pharmacokinetics ; TMDD ; modelling and simulation ; colorectal cancer

Effet vaccine-like associé à un traitement par anticorps thérapeutique inhalé lors d'une infection à *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*)

Aubin PITIOT¹, Thomas SECHER¹, Mélanie CORTES¹, Chloé BOISSEAU¹,
Nathalie HEUZE-VOURC'H¹

¹Centre d'études des pathologies respiratoires, équipe 3 « Aérosolthérapie et biothérapies à visée respiratoire », Inserm U1100, Tours ; Université de Tours

Les infections respiratoires, dues à la colonisation du tractus respiratoire par des agents pathogènes (bactéries, ...) sont aujourd'hui la 4^{ème} cause de décès dans le monde. L'augmentation de la résistance aux antibiotiques de ces agents pathogènes nécessite le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Les anticorps thérapeutiques (Acs) ont déjà démontré leur efficacité anti-infectieuse, ciblant spécifiquement les agents pathogènes afin de les neutraliser à l'aide du système immunitaire de l'hôte. Des études récentes suggèrent de nouveaux aspects de ces Acs, conférant notamment une protection à long-terme. Cet effet « vaccine-like » a déjà été observé dans des contextes de cancer et d'infections virales où une administration d'Acs par voie systémique protégeait l'hôte face à un rechallenge ou une réinfection. Notre laboratoire a démontré qu'une administration pulmonaire d'un Ac dirigé contre la bactérie *P. aeruginosa* était associée à une efficacité court-terme accrue en comparaison à des administrations systémiques. Le but de mon projet est d'étudier la mise en place d'un effet vaccine-like antibactérien associé à un Ac administré par voie pulmonaire. La première partie de mon travail sera d'établir la preuve de concept d'une protection à long-terme contre *P. aeruginosa*. Des individus convalescents à une primo-infection grâce à un traitement par un Ac délivré par voie pulmonaire (priming) seront réinfectés au bout d'un mois (challenge). Les paramètres d'infection et de traitement (priming) modulant leur résistance face au challenge seront analysés. La deuxième partie de mon travail s'attachera à décrire les réponses immunitaires humorales et cellulaires associées à cet effet. Ces données enrichiront le troisième axe d'étude de mon projet qui consistera à évaluer des stratégies permettant l'amélioration de cette protection à long-terme au travers notamment de l'utilisation d'immunomodulateurs.

Mots-clés: Effet « Vaccine-like », pneumonie à *P. aeruginosa*, anticorps thérapeutique, réponses immunitaires

Contrôle analytique des mAbs en solution par spectroscopie Raman

Ayyoub Rayyad^a, Franck Bonnier^a, Victor Massot^b, Igor Chourpa^a

^a Université de Tours, EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France

^bCHU de Tours, Unité de Biopharmacie Clinique Oncologique, Pharmacie, France.

La maîtrise des étapes de bioprocédés est l'un des défis majeurs de la bioproduction industrielle. Relever ce défi passe par le contrôle en ligne des paramètres critiques du procédé et de la qualité du produit. Le contrôle en ligne apporte des gains de productivité tout en réduisant les coûts et des risques de rejet des lots. Dans cet objectif, les solutions de technologies analytiques de procédés (TAP) sont développées à base de techniques analytiques diverses. Une place de choix est attribuée aux spectrométries optiques moléculaires, en particulier à la spectrométrie Raman qui, par la diffusion inélastique de la lumière, met en jeu les vibrations de liaisons moléculaires. Afin de profiter de multiples avantages de la technique Raman (analyse non-invasive, quantitative et qualitative, avec une grande spécificité moléculaire) les développements méthodologiques sont en cours. Dans le présent résumé, nous allons faire part de nos travaux sur l'évaluation du potentiel de la spectrométrie Raman pour la quantification d'anticorps monoclonaux thérapeutiques. Les données enregistrées à partir de solutions préparées à différentes concentrations sont analysées par des méthodes statistiques multivariées. La PLSR (Partial Least Square Regression) est un outil puissant pour évaluer les performances analytiques de la spectroscopie Raman pour construire des modèles prédictifs robustes. Les résultats obtenus sur le Bevacizumab, Trastuzumab et l'Atezolizumab illustrent la sensibilité et la spécificité des analyses Raman pour le contrôle analytique des mAbs en solution.

Design and synthesis of nanoprobes for miRNA targeting using streptavidin-biotin interactions

Iveta Vilímová, Igor Chourpa, Katel Hervé-Aubert

EA6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Université de Tours, Tours, France

MicroRNAs (miRNAs), a short non-coding endogenous RNAs family of approximately 19-23 nucleotides, play an important role in various cellular processes and have been identified as authentic oncogenes or tumor suppressor genes.

Their altered levels of expression have been associated with numerous pathologies (such as cancer) and miRNAs have taken an important place in clinical biology as new diagnostic and prognostic markers (and as indicators of therapeutic response).

The targeted miRNA in this project is miRNA-155 whose overexpression is correlated with the development of breast cancer, the second most commonly diagnosed cancer and the fifth leading cause of cancer-related death worldwide.

Limitations and varying levels of detection sensitivity of current miRNA detection methods (Northern Blot, real-time quantitative PCR (RT-qPCR) and microarrays) have led to the need for development of more sensitive, more specific but also simpler and low-cost detection methods.

Nanomaterials offer significant specificity and sensitivity, permitting the development of new specific and selective nanoprobes for target miRNAs, to allow their detection and quantification.

This research investigated the development of new nanoprobes allowing to detect miRNAs for the early diagnosis of breast cancer. These nanoprobes have a core based of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs – SuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticles). The surface of the SPIONs can be functionalized with the complementary RNA (cRNA) of target miRNA, by several approaches via biotin-streptavidin interactions. This is followed by incubation of functionalized NS with the target miRNAs and subsequent immobilization of the miRNAs on the surface of the NS. We have developed simple and fast method to follow and validate the design of these nanoprobes, as each step of the process can be monitored and verified by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Mots-clés : SPIONs, miRNA, nanoprobes, HPLC

Imagerie Multimodale 3D de l'ovaire de brebis : Rêve ou Réalité ?

Hans Adriaensen^{1,2}, Valerie Labas^{1,2}, Ines Castilla^{1,2}, Emilie Maugrion^{1,2}, Audrey Clausell^{1,2}, Saida Ibntaleb^{1,2}, Ana-Paula Teixeira-Gomes^{1,2}, Marie-Claire Blache², Pascal Papillier² and Svetlana Uzbekova²

¹ INRAE, Université de Tours, CHU de Tours, Plate-forme PIXANIM, 37380, Nouzilly, France

² INRAE, CNRS, Université de Tours, IFCE, UMR PRC, 37380, Nouzilly, France

En physiologie de la reproduction, l'ovaire est un organe clé en lien avec la fertilité chez la femelle, qui repose sur la qualité des ovocytes. C'est un organe très différencié, traversé par de nombreux vaisseaux sanguins, qui renferme plusieurs follicules de différentes tailles contenant chacun un ovocyte. A chaque cycle, plusieurs follicules antraux entrent dans la phase terminale de la folliculogenèse. La plupart rentrent en atresie alors que le follicule dominant en croissance abouti à une ovulation. Nous soutenons l'hypothèse qu'une hiérarchie fonctionnelle existe entre les follicules en raison de leur positionnement dans l'organe et de leur niveau de vascularisation qui modulerait ainsi certaines voies de signalisation.

Notre objectif est d'avoir une vue globale de l'anatomie de l'ovaire ainsi que la distribution précise des biomolécules entre différents follicules. Nous avons développé l'approche d'une imagerie multimodale associant l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), l'Imagerie Optique histologique (IO), et l'Imagerie Moléculaire par Spectrométrie de masse (IMS) en lipidomique. En effet, le métabolisme des lipides est crucial pour la croissance folliculaire et la maturation des ovocytes. De plus une machinerie moléculaire complexe existe dans les cellules folliculaires somatiques et l'ovocyte qui permet de le réguler, mais son rôle au cours de la dominance folliculaire est peu étudié.

Le développement de l'imagerie *ex-vivo* multimodale associant l'IRM 3D, l'ISM 2D et l'IO 2D, appliquée à l'ovaire de brebis, nous a permis de visualiser la position des follicules antraux en 3D et déterminer leur profil lipidique, spécifique de chaque compartiment et type cellulaire. Au cours de l'analyse, nous avons identifié des verrous et des leviers méthodologiques pour la réalisation de l'imagerie multimodale. Les difficultés résident dans la standardisation de la préparation de l'organe et des coupes de tissus pour être analysé sous différentes modalités (compatibilité), la reconstruction en 3D pour l'ISM (gestion de big data), et le traitement d'images pour un alignement multimodal du 2D avec le 3D. Néanmoins, cette approche a permis de caractériser des nouveaux critères de phénotypage physiologique et moléculaire qui ouvrent de nouvelles voies d'investigation de folliculogenèse ovarienne.

Effets des polluants environnementaux sur le développement et l'aggravation de glioblastome

Sara BENHARRAT, Corinne AUGÉ-GOUILLOU, Stéphane MORTAUD
Neurogénomique et physiopathologie neuronale_ iBrain 1253

Le glioblastome multiforme (GBM) est la tumeur cérébrale la plus agressive qui frappe chaque année en France plus de 2400 personnes. La chirurgie suivie de radio et ou chimiothérapie reste le seul traitement. Néanmoins, la récurrence est la règle et la médiane de survie ne dépasse pas les 15 mois.

Notre équipe a montré que la protéine SETMAR est surexprimée dans le glioblastome, et a mis en évidence plusieurs isoformes issues de l'épissage alternatif de l'exon 2 du gène SETMAR. Parmi ces isoformes, le variant S-SETMAR qui est surexprimée chez les patients atteints de GBM est qui semble être un marqueur de bon pronostic.

SETMAR est une protéine ubiquiste qui contribue au maintien de l'intégrité du génome. Elle est exprimée faiblement dans les tissus sains. Par ailleurs, le variant S-SETMAR est surexprimée dans les cellules souches de GBM et son rôle reste inconnu.

Parmi les facteurs susceptibles d'augmenter le risque de survenue d'un glioblastome, nous pensons que les pesticides utilisés en agriculture, notamment dans la région Centre Val de Loire pourraient être un facteur d'aggravation des GBM.

Nos expériences ont montré que l'exposition à trois polluants en cocktail (le glyphosate, la perméthrine et la BMAA) à de faibles doses augmente la prolifération de la lignée de glioblastome, 8MGBA, in vitro. En revanche, nous avons remarqué que les polluants n'ont pas d'effet prolifératif sur les cellules 8MGBA qui surexpriment la protéine S-SETMAR, ce qui va dans le sens du rôle protecteur de S-SETMAR.

Par ailleurs, le traitement des cellules souches de glioblastome, GB5, avec les trois polluants en cocktail, diminue leur nombre et accélère leur différenciation, par comparaison aux cellules non traitées.

La différenciation des GB5, en absence de polluants, s'accompagne d'une diminution de la quantité de S-SETMAR, ce qui est cohérent avec le fait que S-SETMAR est enrichie en cellules souches. En revanche, la quantité de S-SETMAR augmente lorsque la différenciation GB5 se fait en présence de polluants.

Ces modifications de l'abondance relative de SETMAR, en fonction de l'état de différenciation des cellules et/ou de la présence de polluants, sont concomitantes avec des modifications de l'expression de CELF2 et OLIG2, deux facteurs impliqués dans l'agressivité des GBM et l'expression de SETMAR

En conclusion, les polluants environnementaux de type glyphosate, perméthrine et BMAA stimulent la différenciation des cellules souches de glioblastome et augmentent l'expression de S-SETMAR qui semble avoir un effet protecteur dans le glioblastome.

Aussi, l'exposition à ces trois polluants environnementaux en cocktail pourraient aggraver le développement de glioblastome en stimulant la prolifération des cellules différenciées de glioblastome en culture.

Mots clé : Polluants environnementaux, glioblastome, S-SETMAR.

Exploiting spermidine N-hydroxycinnamoyltransferase diversity and substrate promiscuity to produce various trihydroxycinnamoyl spermidines in engineered yeast

Jennifer Perrin, Natalja Kulagina, Marianne Unlubayir, Thibaut Munsch, Inês Carqueijeiro, Thomas Dugé de Bernonville, Johan-Owen De Craene, Marc Clastre, Benoit St-Pierre, Nathalie Giglioli-Guivarc'h, David Gagneul, Arnaud Lanoue, Vincent Courdavault, and Sébastien Besseau
Université de Tours - EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales – Faculté des Sciences et Techniques
Parc de Grandmont - F37200 TOURS

Phenolamides are plant specialized metabolites combining a phenolic moiety with an amine through an amide bond. Trihydroxycinnamoyl spermidines (THCSpd) are particular phenolamides with promising pharmacological activities as antifungals, antibacterial, antiviral, and antidepressant drugs. However, their characterization and potential pharmaceutical exploitation are greatly impaired by the sourcing of these compounds, restricted to the pollen of core Eudicot plant species. In this work, we developed a precursor-directed biosynthesis of THCSpd in yeast using a dual enzymatic system based on 4-coumarate-CoA ligases (4CL) and spermidine N-hydroxycinnamoyltransferases (SHT). The system relies on the yeast endogenous spermidine pool and only requires hydroxycinnamic acids as exogenous precursors. By exploring 4CL isoforms and SHT diversity among plants, we have driven the production of 8 natural THCSpd, using single or mixed hydroxycinnamic acid precursors. Substrate promiscuities of 4CL and SHT were genuinely exploited to produce 8 new-to-nature THCSpd from exotic hydroxycinnamic and dihydrohydroxycinnamic acids, together with 3 new-to-nature THCSpd containing halogenated hydroxycinnamoyl moieties. In this work, we established a versatile and modular biotechnological production platform allowing the tailor-made THCSpd synthesis, constituting pioneer metabolic engineering for access to these valuable natural products.

Unravelling the multiple nudiviral integration traces within insect genomes.

Bézier A., Leobold M., Gayral P., Drezen J-M., Herniou E.A.

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

Nudiviruses are double stranded DNA viruses that infect a wide range of arthropods, from crustaceans to insects. In January 2019, twelve complete exogenous nudivirus genomes were available. Moreover, nudiviruses are occasionally susceptible to integrate their genome within their host's genomes. Some endogenous nudiviruses have been the source of biological innovation for their hosts as previously shown in braconid and ichneumonid parasitoid wasps, in which they respectively produce bracoviruses and virus-like particles. The advent of affordable Next Generation Sequencing led to a tremendous increase of complete genome and transcriptome data of complex non-model organisms such as insects that may carry dsDNA viruses. A dedicated bioinformatic pipeline was used for data-mining billions of raw sequence data to discover new exogenous or endogenous nudiviruses. A thorough search based on databases screening using first a set of conserved nudiviral sequences allowed the identification of new insect species potentially harbouring nudiviruses. Their transcriptomic or genomic data were then investigated in depth and similarities with nudiviral genes were confirmed by BLAST searches against NCBI and against a manually curated nudiviral database. Ultimately over 550 new integrated nudiviral sequences were identified from 14 species belonging to five insect orders. These results highlight the close relationships nudiviruses have had with many insect species since the Paleozoic.

Régulation saisonnière du réseau vasculaire de l'hypothalamus médio-basal chez le mouton

Pierre-Marie Chevillard, Martine Batailler, Marie-Claire Blache, Benoît Piégu, Anthony Estienne
Jean-Philippe Dubois, Joelle Dupont et Martine Migaud.

INRAE, UMR 85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380 Nouzilly, France.

Pour survivre aux variations de l'environnement, la reproduction chez de nombreuses espèces vivant sous les latitudes tempérées se déroule au cours d'une fenêtre de temps précise. Cette programmation de la reproduction permet les naissances au printemps et assure aux jeunes des conditions propices à leur développement et leur survie. Ainsi, chez le mouton, la physiologie de la reproduction est caractérisée annuellement par l'alternance d'une période d'activité sexuelle (durant les jours courts) et d'une période de repos sexuel (durant les jours longs). Cette adaptation physiologique repose sur la lecture de l'information photopériodique ou durée d'éclairement journalier et s'accompagne de changements drastiques d'expression de nombreux gènes et de phénomènes de plasticité cellulaire de l'axe gonadotrope laissant suggérer la mise en place de réseaux neuroendocriniens entre les structures impliquées. Dans la glande pituitaire la densité du réseau vasculaire et le nombre de cellules endothéliales prolifératives varient en fonction de la photopériode. Dans le noyau arqué et l'éminence médiane de l'hypothalamus médio-basal, deux structures connectées à la glande pituitaire et récemment décrits comme abritant une activité neurogénique saisonnière, la régulation du réseau vasculaire par la photopériode n'est pas connue. Par une approche immunohistochimique combinée au développement de nouveaux outils d'analyse d'image, nous avons observé une densité vasculaire significativement plus importante dans le noyau arqué durant la saison de repos sexuel, tandis que, dans l'éminence médiane, la densité vasculaire reste constante quel que soit le moment de l'année. La quantification dans chacune des zones, des cellules endothéliales prolifératives, met en évidence des processus angiogéniques. De plus, l'analyse par RT-qPCR de l'expression de gènes connus pour leur implication dans des processus angiogéniques montre une expression significativement plus importante du gène de VEGFA dans le noyau arqué et de VEGFA, VEGFR2 et PLVAP dans l'éminence médiane durant la saison de repos sexuel. L'ensemble de ces résultats montre l'existence d'une régulation saisonnière du réseau vasculaire de l'hypothalamus médio-basal chez le mouton.

Mots clés : réseau vasculaire ; hypothalamus médio-basal ; saison ; angiogenèse ; VEGF

Etude du rôle synaptique de *DPYSL5*, un gène impliqué dans la déficience intellectuelle

Florence Desprez,¹ Sylviane Marouillat,¹ Médéric Jeanne,^{1,2} Jérôme Honnorat,³ Annick Toutain,^{1,2} Marie-Laure Vuillaume,^{1,2} Frédéric Laumonnier^{1,2}

(1) iBrain, U1253, Inserm, Université de Tours ; (2) Service de Génétique, CHU de Tours ; (3) Institut NeuroMyogène, Lyon

Le gène *DPYSL5* (Dihydropyrimidinase like 5) code pour une protéine qui régule la migration neuronale, le guidage axonal et la croissance neuritique par son interaction avec le cytosquelette. Des études de séquençage d'exome ont identifié, chez 9 patients atteints de déficience intellectuelle (DI) avec des malformations cérébrales, deux mutations *de novo* faux-sens (E41K et G47R) dans le gène *DPYSL5*. Des données antérieures ont montré la présence de la protéine *DPYSL5* dans des fractions synaptiques, suggérant un rôle synaptique chez le neurone mature. L'objectif principal de cette étude est de préciser le rôle physiologique et pathologique de *DPYSL5* au niveau synaptique. Pour évaluer l'impact des deux variants sur le développement des synapses, des cultures de neurones dissociées à partir d'hippocampes d'embryons de souris au stade embryonnaire E17.5 ont été transfectées avec des constructions plasmidiques permettant la surexpression des formes normale et mutées de *DPYSL5* fusionnées à la GFP. Nous avons constaté que la surexpression des formes normale et mutées provoquent une augmentation du nombre d'épines dendritiques comparés aux neurones contrôles. L'immunodétection de la protéine PSD95 (postsynaptic density protein 95) dans des neurones primaires transfectés a révélé que la surexpression de la forme sauvage induit une augmentation du nombre d'épines dendritiques matures par rapport aux cellules contrôles et que les deux variants entraînent une perte de cet effet. Parallèlement, grâce à des modèles murins transgéniques (*Dpysl5*^{-/-} et *Dpysl5*^{+/-}), nous avons évalué les conséquences de l'inactivation totale ou partielle de *Dpysl5* sur l'expression de protéines synaptiques. Par Western Blot, nous avons démontré une diminution de l'expression du transporteur vésiculaire du glutamate (vGluT1) dans les cerveaux des souris *Dpysl5*^{+/-} et *Dpysl5*^{-/-}. L'ensemble de ces résultats suggère une implication de *DPYSL5* dans la synaptogénèse, la maturation et la transmission synaptique excitatrice. En outre, les deux mutations induisent une perte de fonction dans la maturation des épines dendritiques. Ces éléments fournissent des pistes supplémentaires sur les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la DI, soulignant le rôle essentiel du développement et du fonctionnement de la synapse glutamatergique.

Mots-clés : *DPYSL5*, pathologies neurodéveloppementales, déficience intellectuelle, physiopathologie synaptique

Identification of novel gene variants for Autism Spectrum Disorders in the Lebanese population using whole-exome sequencing

Perla Gerges^{1,2}, Tania Bitar¹, Frederic Laumonier², Georges Nemer^{3,4}, Christian R. Andres^{2,5}, Walid Hleihel^{1,6}

¹Holy Spirit University of Kaslik (USEK), Faculty of Arts and Sciences, Jounieh, Lebanon

²Université de Tours, UMR 1253 ibrain, Inserm, Tours, France

³American University of Beirut, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry and Molecular Genetics, Beirut, Lebanon

⁴Hamad Bin Khalifa University, College of Health and Life Sciences, Genomics and Translational Biomedicine Division, Doha, Qatar

⁵CHRU de Tours, Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Tours, France

⁶Holy Spirit University of Kaslik (USEK), School of Medicine and Medical Sciences, Jounieh, Lebanon

Although the etiology of Autism Spectrum Disorders (ASD) is not fully understood, genetic factors such as *de novo* and inherited, as well as rare or common variants, are considered as the leading causes. Whole-exome sequencing (WES) allows identification of genetic variations correlated with ASD such as single nucleotide variations and small insertions/deletions. In our previous study, in which array-CGH was used on 19 Lebanese ASD subjects, we have identified rare copy number variants (CNVs) in 14 subjects. Thus, our aim was to explore rare genetic variations in the remaining five ASD subjects and their parents with negative findings of CNVs in the previous study. After applying a stringent filtering on the initial data of the five families, three novel genes related to neurodevelopment were identified including a *de novo* mutation in the *MIS18BP1* gene. In addition, genes already known as related to ASD contained sequence variations. Our findings outline the potential involvement of the novel *de novo* mutation in *MIS18BP1* gene in the genetic etiology and pathophysiology of ASD and highlights the genetic complexity of these disorders. Further studies with larger cohorts of subjects are needed to confirm these observations and functional analyses need to be performed to understand the precise pathophysiology in these cases.

Keywords: Autism Spectrum Disorders, Whole-exome sequencing, Single nucleotide variations, Insertions/deletions, Genetic etiology, *MIS18BP1*

Innate immune receptors, NLRP3 and NLRP6, are involved in lung inflammation to cigarette smoke exposure

S. HUOT-MARCHAND^{1*}, A. GOMBAULT^{1*}, M. NASCIMENTO¹, C. PANEK¹, F. SAVIGNY¹, M. LEBERT¹, B. RYFFEL¹, V. QUESNIAUX¹, N. RITEAU¹ and I. COUILLIN¹

¹University of Orleans and CNRS, INEM-UMR7355, Orleans, France

* Co-authors

Tobacco smoke is the main cause of several chronic inflammatory lung diseases such as chronic obstructive pulmonary disease (COPD) which is currently the third cause of death in the world. NLRP3 and NLRP6 sensors are able to form inflammasomes, cytoplasmic multiprotein complexes that orchestrate diverse functions during homeostasis and inflammation. Using mice model of cigarette smoke or elastase-induced injury, we previously showed that IL-1 β and the inflammasome adaptor molecule ASC are essential to inflammation, remodeling and emphysema. The NLRP3 inflammasome was shown to promote secretion of the pro-inflammatory cytokines IL-1 β through processing by caspase-1 but its role in lung inflammation to cigarette smoking and COPD remains controversial. Moreover the NLRP6 inflammasome was shown to orchestrate intestinal homeostasis and secretion of mucus proteins by goblet cells in the intestinal epithelium. However, the role of NLRP6 in lung inflammation and repair remains undiscovered.

Wild-type, Nlrp3 or Nlrp6 deficient mice were exposed to 3R4F cigarette smoke 3 times a day for 4 days in order to evaluate inflammatory and remodeling parameters.

On the one hand, our results demonstrate that NLRP3 is an important player of pulmonary inflammation to cigarette smoke exposure, associated with gasdermin D-dependent pyroptotic cell death in lungs.

On the other hand, we highlight for the first time that NLRP6 shapes pulmonary inflammation to cigarette smoke through partial control of gut microbiota. We report impaired airway inflammation with drastic reduction of neutrophils and we suggest that NLRP6 is involved in the apical secretion of CXCL5, a neutrophilic chemotactic factor, by pulmonary epithelial cells.

Identification of new genes of interest in amyotrophic lateral sclerosis by microarrays and NGS analyses: focus on the Ubiquitin/SUMO pathways

Shanez Haouari, Christian Andrès and Patrick Vourch'

U1253 Imagerie et Cerveau, Equipe 2 Neurogénomique et Physiopathologie Neuronale.

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease characterized by the degeneration of motor neurons where protein aggregates rich in ubiquitin and ubiquitin-like proteins are found. Molecular pathways leading to these aggregates remain incompletely understood and possible implication of pathways related to protein regulation and degradation must be investigated, such as the Ubiquitin (Ub)/SUMO pathways. We first studied mouse motor neuronal cell line NSC-34 combining an environmental factor (oxidative stress) and a genetic factor (SOD1 gene mutation). Microarray analysis (Agilent) identified 360 transcripts differentially expressed under oxidative stress. Enrichment for genes of the (Ub)/Ub-like pathway was pointed out. We observed a combined effect of the two factors on the expression of genes, such as Uhrf2, Rbx1, Kdm2b, Ube2d2, Xaf1, and Senp1. We next used next generation sequencing (Illumina) on DNA from patients with ALS, and observed for one patient a substitution in HECW1 gene coding for the protein NEDL1. NEDL1 is a E3 HECT ubiquitin ligase capable of ubiquitinate and degrade mutant form of SOD1 protein (*Miyazaki et al. 2004*) and to enhance p53 mediated apoptosis (*Li et al. 2008*). Transgenic mice expressing human NEDL1 show ALS-like symptoms such as muscle atrophy and motoneuron degeneration (*Zhang et al. 2011*). In conclusion, we have identified several genes of the ubiquitin/SUMO pathways particularly interesting to study in ALS in order to better understand the pathophysiology of the disease. We focus particularly on one of them encoding the E3 ligase NEDL1.

Enhanced bioproduction of anticancer precursor vindoline by yeast cell factories

Natalja Kulagina*¹, Grégory Guirimand*^{1,2,3}, Céline Melin*¹, Pamela Lemos-Cruz¹, Ines Carqueijeiro¹, Johan-Owen De Craene¹, Audrey Oudin¹, Vladimir Heredia¹, Konstantinos Koudounas¹, Marianne Unlubayir¹, Arnaud Lanoue¹, Nadine Imbault¹, Benoit St-Pierre¹, Nicolas Papon⁴, Marc Clastre¹, Nathalie Giglioli-Guivarc'h¹, Jillian Marc¹, Sébastien Besseau^{1#}, Vincent Courdavault^{1#}

1 Université de Tours, EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales, Tours, France

2 Graduate School of Sciences, Technology and Innovation, Kobe University, Kobe, Japan

3 Le Studium Loire Valley Institute for Advanced Studies, Orléans & Tours, France

4 Université d'Angers, EA3142 Groupe d'Etude des Interactions Hôte-Pathogène, Angers, France.

* equal contribution

#corresponding authors: sebastien.besseau@univ-tours.fr; vincent.courdavault@univ-tours.fr

This work was conducted in the context of ARD2020 Biopharmaceutical program of the Région Centre Val de Loire and BioPROPHARM project aiming to exploit yeast and heterologous production of plant-born anticancer medicine precursors. Currently, the pharmaceutical industry faces a growing demand and recurrent shortages in many anticancer plant drugs given their extensive use in human chemotherapy. Efficient alternative strategies of supply of these natural products such as bioproduction by microorganisms are needed to ensure stable and massive manufacturing. Here, we developed and optimized yeast cell factories efficiently converting tabersonine to vindoline, a precursor of the major anticancer alkaloids vinblastine and vincristine. First, fine-tuning of heterologous gene copies restrained side metabolites synthesis towards vindoline production. Tabersonine to vindoline bioconversion was further enhanced through a rational medium optimization (pH, composition) and a sequential feeding strategy. Finally, a vindoline titer of 266 mg/L (88% yield) was reached in an optimized fed-batch bioreactor. This precursor-directed synthesis of vindoline thus paves the way towards a future industrial bioproduction through the valorization of abundant tabersonine resources.

Expanding duplication of the testis-specific Phf7 gene family in the chicken genome

S Fouchécourt¹, V Fillon², C Marrault², C Callot³, B Piégu¹, C Lécureuil⁴, P Monget¹

¹ CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, F-37380, Nouzilly, France

² GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, F-31326, Castanet Tolosan, France

³ CNRGV – Plant Genomic Center INRAE, F-31326, Castanet Tolosan, France

⁴ IRBI, UMR 7261, CNRS-Université de Tours, 37200 Tours

Phf7 (PHD Finger Protein 7) gene involved in histone-to-protamine exchange is indispensable for male fertility in drosophila and mice, and is highly expressed in the chicken testis. The identification of reliable fertility markers in farm chickens is critical in the context of the assessment of decline of reproductive performance. The *Phf7* gene is present in a single copy in the mammalian and drosophila genomes whereas birds surprisingly exhibit numerous genomic copies, but with fluctuations according to species. As gene duplication is a significant motor of phenotypic diversity, with some genes described highly duplicated in chicken, we aimed to evaluate the exact number of *Phf7* copies in the chicken genome.

We performed genomic localization by FISH with specific probes, followed by PacBio method sequencing of the BAC corresponding to the specific identified genomic regions, and gene annotation using FGENESH program.

We identified 10 distinct loci with *Phf7* homolog sequences dispatched on 5 chromosomes: GGA1 (with 3 loci), GGA2 (2 loci), GGAZ (3 loci), GGA12 (1 locus) and GGA19 (1 locus). Each corresponding BAC (9 BACs) was then sequenced and gene-mapped : this allows to predict a total of 116 genes dispatched on the 9 BACs. Among them, BLAST analysis identified 39 genes exhibiting their best homology with the protein XP_040511900.1 (NCBI ID) *Phf7*-like in the chicken genome. These 39 genes share a similar exon-intron structure with 8 to 11 exons, with around 50% identity of their protein sequence.

It is known that gene duplications correspond to complex genomic regions difficult to sequence and assemble. We showed here that *Phf7* gene is highly duplicated in the chicken genome, with at least 39 copies dispatched on 5 chromosomes. As there is no such expanding duplication of *Phf7* in other sauropsids like turtles and reptiles, this phenomenon may be specific of avian species, with still no hypothesis concerning its meaning.

Effets sublétaux d'un pesticide à action perturbateur endocrinien sur le comportement maternel et la reproduction chez le forficule européen (*Forficula auricularia*)

Leslie-Anne MERLEAU, Izia LARRIGALDIE, Séverine DEVERS, Joël MEUNIER* and Charlotte LECUREUIL*

IRBI, UMR 7261, CNRS-Université de Tours, 37200 Tours

L'utilisation croissante de pesticides en agriculture a conduit à une prise de conscience de leurs effets létaux et sublétaux, mais notre compréhension de leurs impacts sur les espèces non ciblées reste insuffisante. De plus, la plupart des travaux menés se concentrent sur la physiologie et la reproduction alors qu'un nombre croissant d'études soulignent que les pesticides pourraient avoir des répercussions importantes sur les comportements et les soins parentaux. Dans ce travail, nous avons évalué les effets de trois doses sublétales de pyriproxifène, un analogue de l'hormone juvénile, à différents moments des soins maternels avant et après l'éclosion et sur la reproduction d'une espèce de Dermaptère auxiliaire des vergers, le forficule européen (*Forficula auricularia*).

Nous avons d'abord montré que le pyriproxifène ne semblait pas avoir d'effet sur les comportements de soins maternels avant et après l'éclosion, ainsi que sur les comportements généraux et sur la reproduction terminale. Il est intéressant de noter que nous avons observé un effet du jour de mesure sur les comportements (maternels et non liés aux soins), suggérant que l'investissement maternel varie au cours du développement des juvéniles. Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent que le pyriproxifène devrait avoir des effets limités sur les forficules sur le terrain et appellent à une meilleure compréhension de la régulation endocrinienne des comportements de soins maternels chez cette espèce.

Atomic level description of the Binding of the Cancer-Related TCTP Protein to the drug sertraline and to the Mcl-1 anti-apoptotic protein

Florian MALARDⁱ, Eric JACQUETⁱ, Naima NHIRIⁱ, Christina SIZUNⁱ, Jérôme DEJEUⁱⁱ, Stéphane BETZIⁱⁱⁱ, Xu ZHANGⁱⁱⁱ, Amélie CHABRIER^{iv}, Samir MESSAOUDI^{iv}, Aurélien THUREAU^v, Ludovic CARLIER^{vi}, Ewen LESCOPI

i. Department of Analytical and Structural Chemistry and Biology, Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, Université Paris- Saclay, 1 av. de la terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette, France

ii. Département de Chimie Moléculaire, Univ. Grenoble Alpes, CNRS, 570 rue de la chimie, CS 40700, Grenoble 38000, France

iii. Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), CNRS, Aix-Marseille Université, Inserm, Institut Paoli-Calmettes. 27 bd Lei Roure, 13273 Marseille CEDEX 9, France

iv. BioCIS, Faculté de Pharmacie, CNRS, Université Paris-Saclay, 92290, Châtenay-Malabry, France.

v. Synchrotron SOLEIL, 91190 Saint Aubin, France.

vi. Sorbonne Université, Ecole normale supérieure, PSL University, CNRS, Laboratoire des Biomolécules (LBM), 75005 Paris, France.

ewen.lescop@cnrs.fr

The small ~20 kDa TCTP protein acts in key cellular functions such as apoptosis and favors cell growth and survival, proliferation, and malignant transformation. High TCTP levels are found in many tumor cells and TCTP is an established target in several cancers with ongoing clinical trials (1) with sertraline molecule. Despite advanced therapeutic applications, the molecular basis of TCTP biology is still poorly understood. TCTP pro-survival properties partly result from the potentialization of Bcl-xL and Mcl-1 anti-apoptotic properties (2). TCTP contains a ~20 aa BH3-like motif that adopts an α -helix when bound at the BH3 binding groove of Bcl-xL but is solvent-protected and forms two solvent-protected β -strands in free TCTP, suggesting a (yet uncharacterized) major conformational rearrangement in TCTP upon Bcl-xL/Mcl-1 binding.

Here by combining an integrative structural biology approach (NMR, SAXS,...) we describe how full-length TCTP interacts with Mcl-1 and with the drug sertraline at the atomic level. We show that TCTP/sertraline interaction is much weaker than previously thought, and proposes a TCTP-independent mode of action for the anti-tumor effect of sertraline. We further showed that the TCTP BH3 sequence binds the classical BH3 binding groove of Mcl-1 with rather low affinity and in a presumably helical conformation, through a highly dynamic protein-protein interface. We further identified the atypical aspartate residue D16 at the position h1 as responsible for the rather low affinity to Mcl-1 and for the increased interface dynamics, which could be related to the unexpected anti-apoptotic behavior of TCTP. We finally show that the unpinning of the TCTP BH3 region from the TCTP core region is required prior to its interaction with Bcl-xL/Mcl-1 partners, which results in a destabilization of the TCTP core region. The newly identified highly disordered TCTP* state is the on-pathway binding intermediate and is lowly populated in absence of binding partner, explaining the slow formation of the complex. This work illuminates how protein order-to-disorder transition may control functional protein-protein interaction with important cellular fate and controlling such transition opens new avenue in anti-TCTP therapeutic applications beyond sertraline.

(1) Amson, R., Auclair, C., Andre, F., Karp, J., and Telerman, A. (2017), *Results Probl Cell Differ* 64, 283-290.

(2) Assrir, N., Malard, F., and Lescop, E. (2017), *Results Probl Cell Differ* 64, 9-46.

Transcriptomics in a tropical tree identify a P450 catalyzing distinct cyclizations of monoterpene indole alkaloids

Louis-Valentin Méteignier¹, Caroline Birer Williams¹, Mehdi A. Beniddir², Pierre Le Pogam², Christelle Dutilleul¹, Arnaud Lanoue¹, Céline Melin¹, Audrey Oudin¹, Sébastien Besseau¹, Vincent Courdavault¹

¹ Université de Tours, EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales, Tours, France

² Université Paris-Saclay, CNRS, Biomolécules : Conception, Isolement et Synthèse, Chatenay-Malabry, France

Monoterpene Indole Alkaloids (MIA) form a complex and rich class of chemical structures. Although the biosynthesis of several MIA scaffolds is known, some types of atypical cyclization events remain to be elucidated *in planta*. The tropical tree *Alstonia scholaris* is a source of specific MIA products from the mavacurane family. They are characterized by an atypical N₁-C₁₆ bond produced from the MIA precursor geissoschizine, formed by a cyclization reaction by yet to be discovered enzymes. By studying the transcriptome of *A. scholaris* in several organs and physiologic conditions, we isolated a set of potentially relevant P450 monooxygenase candidates that could perform this cyclization. Expressing these P450s in purified yeast microsomes revealed that one enzyme was able to convert geissoschizine into several MIA products including the cyclized MIAs synthesized by the previously characterized Geissoschizine Oxidase (GO) and Sarpagan Bridge Enzyme (SBE), but also other potential mavacurane MIAs. This P450 was therefore named geissoschizine cyclase (AsGC) due to its capacity to perform different types of cyclization. The scaling up of the production of these compounds has been initiated to allow their structure elucidation by NMR. In addition, functional genetics based on gene silencing and overexpression will allow the precise characterization of the molecular function of AsGC *in planta*. Phylogenetic analysis revealed that GC, GO and SBE enzymes are conserved in some sequenced MIA-producing plants, and their biochemical properties will be compared side-by-side to potentially shed light on the evolution of MIA synthesis.

La Plateforme d'Ecologie Chimique de l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte

Elfie Perdereau, Christophe Lucas

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI), UMR 7261 CNRS/Université de Tours, Tours, France;
chimie.irbi@univ-tours.fr

La Plateforme d'Ecologie Chimique mutualisée de l'IRBI est dédiée principalement aux analyses des médiateurs chimiques (Composés Organiques Volatiles, Pheromones, Hydrocarbures Cuticulaires) et des métabolites (Sucres, Acides Aminés, Lipides, Protéines) des insectes et/ou des plantes auxquels ils sont associés. Grâce aux différents équipements de pointe, la mission première de la plateforme est de concevoir, développer et conduire des analyses pour les équipes et les collaborateurs de l'institut dans le cadre de leurs projets de recherche. Parmi ces différents équipements, 2 principaux outils permettent d'investiguer un spectre large de composés :

- La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (TQ) permet d'étudier les molécules apolaires de faible poids moléculaire. Grâce à différentes techniques d'extraction automatisées (SHS, DHS, HS, SBSE, SPME), les médiateurs chimiques sont adsorbés puis analysés qualitativement et/ou quantitativement ce qui permet, par exemple, de déterminer les phéromones impliquées dans la reconnaissance intra-spécifique chez les espèces invasives pour aider au biocontrôle des populations. Les stratégies de défenses des plantes sont également étudiées via l'analyse des métabolites contenus dans différents compartiments végétaux suite aux attaques de différents ravageurs et pathogènes.
- La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (QTof) permet de détecter des molécules plus polaires et lourdes à l'état de traces grâce à une large gamme dynamique (spectrale et quantitative). Cette technique permet par exemple, d'identifier la présence de pesticide à partir d'échantillons de terre, d'eau, d'insectes ou de végétaux, dans le but d'appréhender les effets non intentionnels sur des espèces non-cibles.

A partir d'échantillons de différentes natures, nous analysons des substances chimiques endogènes et exogènes par des approches ciblées ou non ciblées. La plateforme répond également aux demandes de laboratoires publics et d'entreprises privées à travers des contrats de collaborations et de prestations de service.

Composition de vésicules extracellulaires du liquide folliculaire ovarien chez la vache.

Svetlana Uzbekova¹, Emilie Maugrion^{1,2}, Lucie Combes-Soia^{1,2}, Ana-Paula Teixeira^{1,2}, Rustem Uzbekov³, Galina Singina⁴, Ekaterina Shedova⁴, Valerie Labas^{1,2}.

- 1) CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, 37380, Nouzilly, France
- 2) INRAE, Université de Tours, CHU de Tours, Plate-forme PIXANIM Phénotypage par Imagerie in/ex vivo de l'Animal à la Molécule, 37380 Nouzilly, France
- 3) Université de Tours, CHRU de Tours
- 4) L.K.Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, Podolsk, Russia

Les vésicules extracellulaires (VEs) sont libérées des cellules par différents mécanismes et sont présentes dans la plupart des fluides corporels. Les microvésicules (MVs) sont formées par un bourgeonnement de la membrane plasmique et possèdent des tailles entre 100-1000 nm tandis que les exosomes, de 30 à 150 nm de diamètre, proviennent de la membrane endosomale. Celle-ci forme des corps multivésiculaires, qui libèrent des exosomes après le fusionnement avec la membrane plasmique. Au sein d'un follicule ovarien antral, le fluide folliculaire (FF) contient différentes VEs qui sont produites par les cellules folliculaires. Dans les échanges entre l'ovocyte et les cellules somatiques folliculaires, les exosomes ont un rôle de cargo moléculaire contenant des microARN, protéines et lipides, qui peuvent être absorbés par les cellules cibles. L'objectif a été de comparer le contenu protéique et lipidique de MVs et d'exosomes extraits du FF bovin. Nous avons utilisé le phénotypage moléculaire par spectrométrie de masse MALDI-TOF (RapifleX Tissuetyper, Bruker Daltonics) pour établir les empreintes protéiques/peptidiques et lipidiques de MVs et d'exosomes issus de follicules de taille 3-8 mm. Ces derniers sont couramment utilisés comme une source d'ovocytes dans les biotechnologies de reproduction chez la vache. Les populations de MVs et d'exosomes ont été constituées à partir de 6 pools de FF par centrifugations différentielles allant de 2,000g à 100,000g. La taille moyenne des VEs déterminée par microscopie électronique était de 170 ± 72 nm pour les MVs, et de 60 ± 22 nm pour les exosomes. Les profils lipidiques acquis en mode positive ou négatif, ainsi que les empreintes protéo-peptidiques se sont révélés significativement différents entre MVs et exosomes selon l'abondance de plusieurs lipidoformes et protéoformes ($p < 0.05$). L'annotation de ces biomolécules détectés dans les MVs et exosomes aide à comprendre le rôle de ces deux types de VEs dans les échanges moléculaires, la dégradation des protéines et le métabolisme des lipides au sein du follicule ovarien.

Financement : Région Centre (achat du MALDI-TOF), INRAE département PHASE, Fond Scientifique de la Russie (RNF, projet 19-16-00115).

Listes des présentations par ordre alphabétique

► Conférences

- AUCAGNE Vincent, *page 11*
- DUPLANCHET Alain, *page 23*
- GALLARDO Franck, *page 25*
- GRAVIER-PELLETIER Christine, *page 18*
- GUEDON Éric, *page 24*
- LEVY Frédéric, *page 12*
- MAURY Stéphane, *page 19*
- PINCEBOURDE Sylvain, *page 26*
- RHIMI Moez, *page 17*
- STRICK Terence, *page 7*
- ZALETA RIVERA Kathia, *page 16*

► Communications orales

- CEZARD Adeline, *page 9*
- De CONCINI Vidian, *page 15*
- DEROUIN TOCHON Flavie, *page 13*
- JABBOUR Nancy, *page 13*
- KOVALENKO Anton, *page 10*
- LAMAMY Juliette, *page 21*
- MOLINEAU Jérémy, *page 22*
- PAILLER Louis, *page 20*
- PERRIN Jennifer, *page 8*

► Comminations par pitches et/ou poster

Concours ED549/BTC

- BARSAC Emilie, PB5, *page 42*
- BERNARDI Ophélie, PD37, *page 74*
- BIGOT Paul, PA1, Pich 1, *page 38*
- BILLY Sandra, PE46, Pitch 24, *page 83*
- BOURDON Guillaume, PD38, Pitch 19, *page 75*
- BRETAGNE Damien, PC13, Pitch 8, *page 50*
- BRISKER Thibault, PC14, Pitch 9, *page 51*
- BRUGEMANN K., PC15, Pitch 10, *page 52*
- CANTIN Pauline, PB6, Pich 4, *page 43*
- CARE Flore, PC16, *page 53*
- CHARTIER Solweig, PC17, *page 54*
- CHESNAY A., PB7, Pitch 5, *page 44*
- CHEVAUX Laura, PC18, Pitch 11, *page 55*
- CISSE El Hadji, PC19, *page 56*
- DAUDON Mathilde, PD39, *page 76*
- DEGRANGE Rachel, PD40, *page 77*
- DELEHEDDE Christophe, PC20, *page 57*
- DOMAIN Roxane, PA2, *page 39*
- DURAND Marie-Alice, PB8, Pitch 6, *page 45*
- ESNAULT Clara, PB9, *page 46*
- FERREIRA M., PE47, *page 84*
- FLOQUET Rémi, PC21, *page 58*
- FRANZETTI Milène, PC22, *page 59*
- GARNIER Simon, PE48, Pitch 25, *page 85*
- GROS Quentin, PC23, Pitch 12, *page 60*
- HAOUZI Mélissa, PD41, *page 78*
- JAMI Ludovic, PD42, Pitch 20, *page 79*
- JISHI Zahraa, PE49, *page 86*
- JOLIVET Louis, PB10, *page 47*
- KICHOU Hichem, PE50, Pitch 26, *page 87*
- LECLERC Mathieu, PD43, Pitch 21, *page 80*
- LOBET Sarah, PE51, *page 88*
- MAGAND Jérémy, PC25, *page 62*
- MATHIEU Thomas, PC26, *page 63*
- MEHDI Tinhinane, PC27, *page 64*
- MERESSE S., PC28, Pich 14 *page 65*
- MESSAOUD-NACER Yasmine, PC29, *page 66*
- MIMOUN Liliane, PC30, *page 67*
- MIQUELESTORENA-S. Elodie, PA3, Pitch 2, *page 40*
- PITIOT Aubin, PE52, *page 89*
- PY Libouban, PC24, Pitch 13, *page 61*
- RAYYAD Ayyoub, PE53, *page 90*
- ROUX Anne-Emmanuelle, PB11, *page 48*
- SAINT-MARTIN Vincent, PB12, Pich 7, *page 49*
- SAVANE Parisa, PC31, Pitch 15, *page 68*
- SERRA Loïse, PD44, Pitch 22, *page 81*
- TETEAU Ophélie, PD45, Pitch 23, *page 82*
- TOMAS J., PC32, Pitch 16, *page 69*
- TORUN Damia, PC33, *page 70*
- VENA Vittoria FERDRICA, PC34, Pitch 17, *page 71*
- VILIMOVA Iveta, PE54, Pitch 27, *page 91*
- VILLALONGA E., PC35, *page 72*
- WILS L., PA4, Pitch 3, *page 41*
- ZHAMUNGUI Adison, PC36, Pitch 18, *page 73*

Posters Hors-concours ED/BTC

- ADRIAENSEN Hans, P55, *page 92*
- BENHARRAT Sara, PE56, *page 93*
- BEZIER, A., P58, *page 94*
- CHEVILLARD Pierre-Marie, P59, *page 96*
- DESPREZ Florence, P60, *page 96*
- FOUCHECOURT S., P65, *page 97*
- GERGES Perla, P61, *page 98*
- HAOUARI Shanez, P63, *page 99*
- HUOT-MARCHAND, P62, *page 101*
- KULAGINA Natalja, P64, *page 101*
- LESCOP Ewen, P67, *page 102*
- MALARD Florian, P67, *page 104*
- MERLEAU Leslis-Anne, P66, *page 104*
- METEIGNER Louis-Valentin, P68, *page 104*
- PERDEREAU Elfie, P69, *page 105*
- PERRIN Jennifer, P57, *page 106*
- UZBEKOVA Svetlana, P70, *page 11*
- UZBEKOVA Svetlana, P70, *page 95*

JEUDI 7 octobre 2021

<p>8h 30 9h 00 - 9h 30</p>	<p>Accueil des participants OUVERTURE DU COLLOQUE- Session académique</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anne BESNIER, Conseillère régionale Vice-Présidente déléguée à l'Enseignement Supérieur, à la Recherche et l'innovation • Catherine BEAUMONT, Vice-Présidente « recherche » pour la biologie et la santé, les sciences et la technologie, Univ. de Tours • Pascal BONNET, Vice-Président du conseil académique en charge de la commission de la recherche, Univ. d'Orléans • Marc GUERIN, Président du Centre INRAE Val de Loire • Bertrand CASTAING, Président de Biotechnocentre
<p>SESSION 1 9h 30 - 10h 15</p>	<p>Modération : Bertrand CASTAING Terence STRICK, Institut de Biologie de l'École Normale Supérieure (IBENS), CNRS UMR8197- Inserm U1024, ENS Paris La Pharmacologie à l'ère des Nanotechnologies</p>
<p>SESSION 2 10h 15 - 10h 30</p>	<p>Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modération : Franck SUZENET & Sophie TESSERAUD Filière A : Jennifer PERRIN, BBV, EA2106, université de Tours Développement de cellules usines de levure pour la sécurisation de la production de l'anticancéreux ETOPOSIDE</p>
<p>10h 30 - 10h 45</p>	<p>Filière B : Adeline CEZARD, CEPR, UMR1100, INSERM, Tours Identification of a host immunoregulatory metabolite that protects against influenza A and B pneumonia</p>
<p>10h 45 - 11h 00</p>	<p>Filière C : Anton KOVALENKO, CBM, UPR4301 CNRS, Orléans Nanosized bimodal imaging agents based on ytterbium complexes</p>
<p>11h 00 - 11h 30</p>	<p>PAUSE-CAFE</p>
<p>SESSION 3 11h 30 - 11h 50</p>	<p>Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 – Modération: Sébastien ROGER Session Pitches (9 pitches 1 min 30)</p>
<p>SESSION 4 11h 50 - 12h 20</p>	<p>Modérateur : Marie-Claude VIAUD-MASSUARD Vincent AUCAGNE, Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), UPR4301 CNRS, Orléans Développements méthodologiques pour la synthèse chimique de protéines</p>
<p>12h 20 - 14h 00</p>	<p>PHOTO DU GROUPE & REPAS</p>
<p>SESSION 5 14h 00 - 14h 30</p>	<p>Modération : Henri SALMON Frédéric LEVY, CNRS, IFCE, INRAE, Univ de Tours, Physiologie de la Reproduction et des Comportements (PRC), F-37380, Nouzilly Déterminants comportementaux et neurobiologiques du comportement maternel chez les ovins</p>
<p>SESSION 6 14h 30 - 14h 45</p>	<p>Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modération : Agnès DELMAS & Christelle SUPPO Filière D : Flavie DEROUIN TOCHON, PRC, INRAE, Tours Décryptage des possibles mécanismes centraux d'action du β Nerve Growth Factor (βNGF) dans l'induction de l'ovulation chez la souris</p>
<p>14h 45 - 15h 00</p>	<p>Filière B : Nancy JABBOUR, ISP, UMR1282, INRAE, Tours Srn024, un petit ARN impliqué dans l'adaptation du pathogène Streptococcus agalactiae à son environnement</p>
<p>15h 00 - 15h 15</p>	<p>Filière C : Vidian de CONCINI, INEM, UMR7355 CNRS- Université d'Orléans / CBM, UPR4301 CNRS Involvement of astrocytes and neuroinflammatory processes in nociceptive defects of Fmr1 KO mice, model of Fragile X syndrome</p>
<p>15h 15 - 15h 35</p>	<p>Session Pitches (9 pitches 1 min 30) Modération : Isabelle VIRLOGEUX-PAYANT</p>
<p>15h 35 - 16h 05 16h 05 - 16h 30</p>	<p>ASSEMBLEE GENERALE PAUSE-CAFE</p>
<p>SESSION 7 16h 30 - 17h 00 Tours</p>	<p>Modération : Christian ANDRES Kathia ZALETA RIVERA, Chercheuse Le Studium, Institut du cerveau (iBrain), UMR1253 Inserm-Université de Tours Protein translation enhancement therapy for the treatment of neurodegenerative diseases</p>
<p>17h 00 - 17h 45</p>	<p>Moez RHIMI, Institut Micalis, AgroParisTech, INRAE, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas Proteolytic homeostasis at the cutting edge of IBD: Focus on gastrointestinal inflammation</p>
<p>SESSION 8 17h 45 - 18h 00</p>	<p>Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 – Modération : Florian GUILLOU Session Pitches (9 pitches 1 min 30)</p>
<p>18h 00 - 19h 45 19h 45 - 20h 00 20h 00</p>	<p>SESSION POSTER APERITIF REPAS & SOIREE BIOTECHNOCENTRE</p>

VENDREDI 8 Octobre 2021

SESSION 9

9h 00 - 09 h45

Modération : **Nathalie GUIVARC'H**

Christine GRAVIER-PELLETIER, UMR8601, Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques, Université de Paris

Inhibiteurs de la transférase bactérienne MraY, vers de nouveaux antibiotiques

9h 45 - 10h 15

Stéphane MAURY, Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures (LBLGC), Université d'Orléans
Intérêt de l'épigénétique pour les plantes dans le cadre du changement climatique

10h 15-10h 45

PAUSE-CAFE

SESSION 10

10h 45 - 11h 00

Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modération : **Géraldine ROUX & Emilie ALLARD-VANNIER**

Filière D : **Louis PAILLER**, IRBI, UMR7264 CNRS, Tours

Le comportement de body-shaking produit des vibrations complexes chez les termites souterrains

11h 00 - 11h 15

Filière E : **Juliette LAMAMY**, GICC, EA 7501 - ERL 7001, Tours

Modulation de l'expression du récepteur néonatal à la portion Fc des IgG (FcRn) durant la différenciation des monocytes en macrophages

11h 15 - 11h 30

Filière C : **Jérémy MOLINEAU**, ICOA, UMR7311 CNRS, Orléans

Analyse de peptides à visée pharmaceutiques par chromatographie unifiée couplée à la spectrométrie de masse

SESSION 11

11h 30 - 12h 15

Modération : **Jean-Louis DACHEUX**

George

Alain DUBLANCHET Ancien chef du laboratoire de microbiologie au centre hospitalier de Villeneuve-Saint-George

Les Bactériophages en thérapie humaine

12h 15 - 14h 00

REPAS

SESSION 12

14h 00 - 14h 45

Modération : **Catherine TARAGNAT**

Éric GUEDON, L'Institut Agro/Agrocampus Ouest, Science et technologie du lait (STLO), INRAE Rennes

Applications biotechnologiques des vésicules extracellulaires

14h 45 - 15h 15

Franck GALLARDO, Président de NeoVirTech

NeoVirTech, une entreprise spécialisée dans l'identification de nouveaux anti-viraux

15h 15 - 15h 45

Sylvain PINCEBOURDE, Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI), UMR7261 CNRS-Université de Tours

Le rôle du microclimat dans la réponse des insectes au changement climatique

15h 45

REMISE DES PRIX

16h 30

CLOTURE & ... AQUA MUNDO

