

- **Éditorial d'Anne BESNIER**
- **Programme du 34^e colloque** (20-21 octobre 2022, Village de vacances de la Ferme de Courcimont, Nouan-le-Fuzelier, 41)
- **Actualité Biotechnocentre**
 - 7^e journée thématique de Biotechnocentre : « Exposome et épigénétique : comment l'environnement se joue de nos gènes ? » 24 juin 2021
- **Entretien avec un chercheur « Le Studium »**
- **Vie des laboratoires en Région Centre-Val de Loire**
 - EA2106 - Université de Tours, « Biomolécules et Biotechnologies Végétales » (BBV)
 - Marcin Suskiewicz, un jeune chercheur CNRS fraîchement recruté au Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), UPR4301, Orléans
- **Nouvel équipement et savoir-faire**
 - « F-SELEX : une plateforme robotisée pour l'évolution moléculaire dirigée de motifs ARN fonctionnels »
- **Spécificités régionales**
 - Bioeurope, une société de recherche et développement dans le domaine des biotechnologies et des ingrédients naturels pour la cosmétique, la nutrition santé et les peptones.
 - Liste des startups et PME
- **Brève biotechnologique**

SOMMAIRE

Ont collaboré à la rédaction de cette lettre :

Luigi Agrofoglio ; Christian Andres ; Catherine Beaumont ; Hélène Bénédicti ; Anne Besnier ; Marc Bertrand ; Marc Boudvillain ; Franck Brignolas ; Norbert Bromet ; Bertrand Castaing ; Jean-Claude Chénieux ; Jean-Louis Dacheux ; Catherine Dagorn-Scaviner ; Mildred Delaneau ; Éric Eveno ; Stephen Foster ; Nathalie Guivarc'h ; Philippe Loiseau-Dubosc ; Aurélien Montagu ; Emilie Munnier ; Gilles Pilate ; Henri Salmon ; Marcin Josef Suskiewicz ; Catherine Taragnat ; Dieudonnée Togbé ; Marie-Claude Viaud-Massuard ; Florent Yvergnaux

Présidente : Catherine Taragnat - Responsable éditorial : Bertrand Castaing - Secrétariat : Nathalie Riche

Chères et chers membres de BioTechnoCentre,

Les dernières années que nous venons de vivre auxquelles s'ajoute un été particulièrement chaud, nous rappelle, s'il le faut, l'urgence d'agir. Si le terme anthropocène fait encore débat, nous sommes bien entrés dans une ère où la terre n'a plus la capacité de réagir à l'attaque globale qu'elle subit. Mais l'homme fait partie de la terre et ce qu'elle subit nous le subissons aussi.

Il est donc urgent d'agir mais comment ? De façon réfléchie et mondialement équilibrée et pour cela les scientifiques doivent être entendus par les politiques et par les populations.

En parallèle du travail du GIEC, des initiatives existent tel que le shiftproject sur la décarbonation ou les recommandations de Jean Jouzel pour « sensibiliser et former aux enjeux de la transition écologique et du développement durable dans l'enseignement supérieur ».

La Région Centre-Val de Loire prend aussi des initiatives en mettant en place plusieurs dispositifs : l'Agence Régionale de la Biodiversité (ARB), la COP régionale, l'Agence Régionales Energie Climat (AREC), le Climate Data Hub (afin de pouvoir mesurer l'impact des actions sur le climat), le conseil de perspective sur les micropolluants...

Tous ces dispositifs doivent inclure des scientifiques de toutes disciplines pour continuer à alerter, conseiller, orienter, et indiquer quelles recherches doivent être entreprises

C'est pour cela que la Région soutient la structuration des forces régionales de recherche et les réseaux thématiques régionaux, lesquels ont aussi vocation à encourager les collaborations interdisciplinaires.

C'est pour cela que la Région va demander aux réseaux de réfléchir à de nouvelles modalités de travail pour les années à venir, à l'occasion de l'évolution du dispositif des RTR.

Il faut également inciter les chercheurs à ouvrir leurs activités de recherche aux acteurs économiques et à la société civile, pour répondre aux défis sociétaux, stimuler l'innovation responsable et les accompagner dans leurs mutations.

Le travail à mener est herculéen et titanique mais il est également fabuleux et fantastique. La Région sera à vos côtés pour vous permettre de le réaliser.

Anne BESNIER

*Vice-Présidente Région Centre-Val de Loire
Enseignement Supérieur, Recherche, Innovation*



Les Biosciences en région Centre-Val de Loire

Programme du 34^e Colloque de Biotechnocentre

La Ferme de Courcimont, Nouan-le-Fuzelier – 20 et 21 octobre 2022

JEUDI 20 octobre 2022

8h 30
9h 00 - 9h 30

Accueil des participants

OUVERTURE DU COLLOQUE- Session académique

- Catherine BEAUMONT, Vice-Présidente « recherche » pour la biologie et la santé, les sciences et la technologie, Université de Tours
- Luigi AGROFOGLIO, Vice-Président délégué aux relations internationales de l'université d'Orléans
- Marc GUERIN, Président du Centre INRAE Val de Loire
- Philippe ROINGEARD, membre du comité d'administration de l'université de Tours
- Catherine TARAGNAT, Présidente de Biotechnocentre

Modération : Agnès DELMAS

SESSION 1

9h 30 - 10h 10

Ruxandra GREF, Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay, Université Paris-Sud, Orsay
Nanoparticules "cage" pour le traitement du cancer et des infections sévères

Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modération : Isabelle VIRLOGEUX-PAYANT et Sophie TERRERAUD

SESSION 2

10h 10 - 10h 25

Filière A : **Shanez HAOURI**, UMR 1253, iBrain, Université de Tours

Implication de la protéine NEDL1 dans la Sclérose Latérale Amyotrophique

10h 25 - 10h 40

Filière B : **Sébastien EYMIEUX**, U1259 MAVIVH, Université de Tours

Analyse en microscopie électronique à transmission (MET) des modifications ultrastructurales viro-induites, et des mécanismes de sortie du SARS-CoV-2 en cellules Vero

10h 40 - 10h 55

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

Design and synthesis of ligands targeting the cGAS-STING signaling pathway

10h55 - 11h 25

PAUSE-CAFE

Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 – Modération: Florian GUILLOU
Session Pitches (8 pitches 1 min 30) Pitch 1-8

SESSION 3
11h 25 - 11h 45

Modérateur : Dieudonnée TOGBE

Benoît BRIARD, UMR1100 Infection respiratoire & Immunité, Université de Tours
Réponse de l'immunité innée lors d'une infection fongique

SESSION 4

11h 45 - 12h 15

PHOTO DU GROUPE & REPAS

Modération : Bertrand CASTAING

Pascal MAYER, Alphasos S.A.S., Riom

Du « Next Generation Sequencing » (NGS) au « Next Generation Technology » (NGT) : histoire de disrupter

12h 15 - 14h 00

SESSION 5

14h 00 - 14h 30

Marc BOUDVILLAIN, Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), UPR4301 CNRS, Orléans
Régulation des gènes par un moteur moléculaire unique aux bactéries

14h 30 - 15h 00

Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modération : Christelle SUPPO et Sébastien ROGER

SESSION 6

15h 00 - 15h 15

Filière D : **Guillaume BOURDON**, UMR PRC, INRAE-CNRS-Université de Tours-IFCE, Nouzilly

Etude de l'effet du FGF21 sur la fonction testiculaire

15h 15 - 15h 30

Filière B : **Arthur BATTISTONI**, UMR ISP, INRAE- Université de Tours, Tours

Nouvelle approche immunothérapeutique contre les mélanomes métastatiques en utilisant le protozoaire Neospora caninum

15h 30 - 15h 45

Filière C : **Elodie VILLALONGA**, CBM, UPR4301 CNRS- Université d'Orléans-INSERM, Orléans
New insights into the regulation of actin cytoskeleton dynamics via the Rho/ROCK/LIMK2/cofilin signalling pathway: a novel mechanism of regulation of cofilin activity by LIMK2

SESSION 7
15h 45 - 16h 00

Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 – Modération: Hélène BENEDETTI
Session Pitches (8 pitches 1 min 30) Pitches 9-16

16h 00 - 16h 30
16h 30 - 17h 00

ASSEMBLEE GENERALE
PAUSE-CAFE

Modération : Catherine TARAGNAT

Sébastien ELIS, UMR INRAE-CNRS-Université de Tours-IFCE -PRC, Nouzilly
Bisphénols et reproduction femelle

SESSION 8
17h 00 - 17h30

Antoine TOUZE, UMR Université-INRAE 1282 - Infectiologie et Santé Publique (ISP), Université de Tours
Thérapie ciblée du carcinome à cellules de Merkel

18h 00 - 20h 00
20h 00

SESSION POSTERS
APERITIF, REPAS & SOIREE BIOTECHNOCENTRE



Les Biosciences en région Centre-Val de Loire

Programme du 34^e Colloque de Biotechnocentre

La Ferme de Courcimont, Nouan-le-Fuzelier – 20 et 21 octobre 2022

VENDREDI 21 Octobre 2022

SESSION 9 (COSMETOLOGIE)

Modération : **Emilie MUNNIER**

9h 00 - 09 h30

Emilie DESTANDAU, ICOA UMR 7311 Université d'Orléans-CNRS
Extraction et identification de molécules naturelles d'intérêt cosmétique

9h 30 - 10h 00

Leslie BOUDESOCQUES-DELAYE, EA 7502 Synthèse et Isolement de Molécules BioActives (SIMBA), Université de Tours
Les Solvants Eutectiques Profonds Naturels : une solution bio-inspirée pour la bioraffinerie de microalgues en cosmétique

10h 00 - 10h 30

Charles BODET, EA 4301 Laboratoire Inflammation Tissus Épithéliaux et Cytokines (LITEC), Université de Poitiers
Modèles in vitro d'inflammation et d'infection cutanées

10h 30-11h 00

PAUSE-CAFE

SESSION 10

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

11h 00 - 11h 15

Filière D : **Martin DESSART**, IRBI, UMR7264 CNRS, Tours
Effects of two herbicides and one medical drug, alone or in mixtures, on locomotor activity and learning in *Aedes aegypti* larvae

11h 15 - 11h 30

Filière E : **Aubin PITIOT**, CEPR, UMR1100, INSERM, Tours
Mucosal administration of anti-bacterial antibody (Ab) provides long-term protection against *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection

11h 30 - 11h 45

Filière C : **Hanae MAKHOKH**, LBLGC, Université d'Orléans, Orléans
Caractérisation d'osmosenseurs de peuplier : recherche de domaine fonctionnel

SESSION 11

Modération : **Henri SALMON**

11h 45 - 12h 15

Isabelle DIMIER-POISSON, UMR Université-INRA 1282 - Infectiologie et Santé Publique (ISP), Université de Tours
Un vaccin nasal anti-COVID-19 : pour une fin de pandémie?

12h 15 - 14h 00

REPAS

SESSION 12

Modération : **Nathalie GUIVARCH**

14h 00 - 14h 40

Tristan RICHARD, UMR OENO 1366 - Univ Bordeaux - INRAE - ISVV
Valorisation des co-produits de la vigne : de la santé végétale à la santé humaine

14h 40 - 15h 10

Mathieu CINIER, Affilogic, Nantes
The Nanofitin technology as a versatile platform for therapeutic developments

SESSION 13

Modération : **Christian ANDRES**

15h 20 - 15h 50

Jérôme CASAS, IRBI, UMR7261 CNRS, Tours
Senseurs et traitement de l'information bioinspirée des insectes

15h 50 - 16h 30

REMISE DES PRIX & CLOTURE



Moments choisis de la 7^e journée thématique

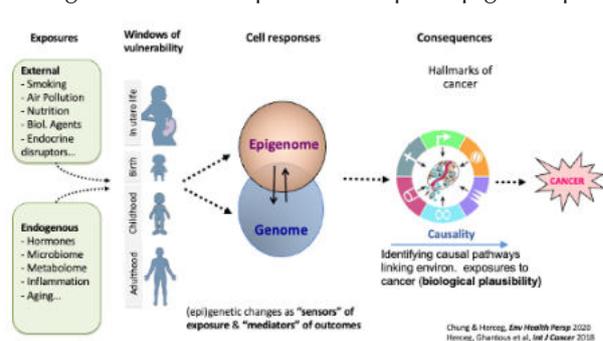
7^e journée thématique de Biotechnocentre « Exposome et épigénétique : comment l'environnement se joue de nos gènes »

La 7^e Journée Thématique intitulée « Exposome et épigénétique : comment l'environnement se joue de nos gènes » s'est déroulée en présentiel le 17 juin 2022 au restaurant « À Madagascar » à Olivet (45). 75 participants étaient au rendez-vous, soulignant l'intérêt croissant suscité par cette thématique. Le programme avait pris soin de faire place à l'interdisciplinarité permettant de croiser les regards sur les évolutions de ce domaine en plein essor.

L'exposome représente l'ensemble des expositions qui peuvent influencer la santé humaine tout au long de la vie. Il comprend, selon Chris Wild, les expositions physiques extérieures, le contexte psychologique et social et les régulations du milieu intérieur. Ce nouveau concept englobe en réalité l'ensemble des facteurs de risque d'origine non génétique. Des contributions supplémentaires ont suivi celle de Wild, précisant de manière plus concrète à quoi pourrait correspondre l'exposome. Vermeulen et al. ont préconisé la caractérisation de l'exposome à une échelle similaire à celle du génome, afin de répondre aux défis de santé auxquels sont confrontées cette génération et les générations futures. De même Price et coll ont défini l'exposomique fonctionnelle comme correspondant aux impacts biologiques de l'exposome en s'inspirant de la définition de la génomique fonctionnelle par rapport au génome (extrait de Robert Barouki).

Robert Barouki (Inserm U1124 à Université Paris Cité et Hôpital Necker Enfants Malades) a ouvert la journée en précisant ce que l'on entend actuellement sous les termes d'exposome, d'exposomique fonctionnelle, d'épigénome et d'épigénotoxicité. Ainsi, des ponts entre exposome et toxicologie ont été établis au travers d'approches multidisciplinaires et intégrées dans le domaine environnement/santé et dans le domaine des maladies métaboliques. Il nous a expliqué en particulier tout l'intérêt d'introduire l'exploitation de l'exposome en médecine clinique au même titre que celle du génome (pollution de l'air, air intérieur, milieu du travail, perturbateurs endocriniens, etc). Cet exposé a été suivi de celui de **Claudine Julien** (Faculté de Médecine Paris-Ouest, Université Paris Descartes) qui nous a expliqué comment l'exposome et donc l'épigénome qui en résulte (l'ensemble des marques épigénétiques) « biologise » le genre. Sachant que les marques épigénétiques

sont sensibles à l'environnement, les influences socio-culturelles liées au genre les façonnent depuis la naissance. Les différences d'expression génétique entre femmes et hommes concernent un tiers des gènes et sont donc liées à des différences biologiques liées au sexe et au genre. Il est clair maintenant que la détermination du genre ne se réduit donc pas à « une histoire de sexe ». Les deux présentations suivantes ont abordé le lien entre exposome et cancer. **Olivier Héroult** (CHU de Tours, CNRS EMR 7001 LNOx « Niche leucémique & métabolisme oxydatif ») a illustré ce thème en nous expliquant que les cellules souches mésenchymateuses (CSM) médullaires des syndromes myélodysplasiques (SMD) présentent d'importantes anomalies de méthylation des gènes HOX. Ainsi, l'exposition *in vitro* à de faibles doses de pesticides des CSM de sujets sains reproduit les anomalies observées dans les CSM de patient SMD. Ces observations récentes conduisent à s'interroger sur un possible lien entre exposition chronique à de faibles doses de pesticides, anomalies de méthylation de l'ADN des CSM et évolution de l'hématopoïèse clonale vers des hémopathies myéloïdes. Toujours sur le thème « Exposome et cancer », **Zdenko Herceg** (Centre International de Recherche sur le Cancer-CIRC de Lyon) nous a parlé des analyses épigénétiques et épigénomiques haut-débit qu'il développe pour les études mécanistiques et de profilage de la cancérogenèse. Ces études ont conduit à des



percées conceptuelles et à des avancées majeures dans la compréhension des causes moléculaires de la tumorigénèse qui ont permis de découvrir un certain nombre de biomarqueurs des expositions environnementales et du risque de cancer. **Pascal Vaudin** (PRC, UMR CNRS7247, IFCE, INRAE, Univ. Tours), a ouvert l'après-midi sur l'impact des perturbateurs endocriniens sur le maintien de l'homéostasie. Il a rappelé combien notre environnement était contaminé par des dérivés de la pilule contraceptive, notamment l'éthinylestradiol. Ce composé pollue notre hydrosphère de façon permanente à telle enseigne qu'il est détecté entre autres dans les eaux de rivière et les nappes phréatiques et qu'il se retrouve dans la totalité de la chaîne trophique de la faune sauvage. Même l'eau du robinet en contient si bien que des études entreprises chez le rongeur lors de son développement ont montré un effet sur des circuits neuronaux contrôlant la fonction de reproduction. C'est ainsi que P. Vaudin a développé un modèle cellulaire de cellules gliales et nous a présenté de façon convaincante et très didactique l'impact d'une exposition à dose environnementale sur leur morphologie et leur métabolisme. Les deux conférences suivantes ont révélé l'importance d'évaluer l'impact des polluants environnementaux et les risques sur la biodiversité et la santé humaine. **Jean-Marc Bonmatin** (CNRS, CBM UPR4301, Orléans), a évoqué le cas des néonicotinoïdes, aujourd'hui interdits en France et en Europe, des insecticides à l'effet dévastateur sur les abeilles, mais aussi sur bien-d'autres invertébrés terrestres et aquatiques. L'étude de l'exposome aux pesticides ne s'arrête pas aux insectes car ils sont retrouvés chez l'homme et les animaux au travers de l'alimentation, de l'air et de l'eau. Les effets en cascade associés aux pesticides illustrent parfaitement le concept « *One Health* », cher à nos collègues du RTR FÉRI : 1) effets sur les populations de poissons et d'oiseaux, 2) menaces sur les productions agricoles (ex. pollinisation et fertilité des sols) et 3) contamination généralisée de notre nourriture. Les conséquences chez l'Homme sont aussi maintenant dénoncées (perturbateurs endocriniens, cancers, maladies du spectre autistique, malformations, neurodéveloppement du

foetus et chez l'enfant, fertilité, maladies rénales, etc.). **Damien Gully** (BBV, EA2106, Univ. Tours) (qui a remplacé Benoît St-Pierre), a, quant à lui, illustré l'importance d'identifier le rôle des marques épigénétiques chez les plantes. En particulier dans les suspensions cellulaires végétales cultivées *in vitro*, afin de pouvoir disposer de nouveaux moyens de contrôle de leur déterminisme biochimique et ainsi influencer leur production de métabolites spécialisés, utilisés à des fins pharmaceutiques ou cosmétiques. **Amélie Crépet** (Direction de l'évaluation des risques, ANSES, Maisons-Alfort) a clôturé la journée en indiquant comment les nombreuses études sur l'exposome conduisent à l'évaluation et à la prédiction des risques pour la biodiversité et en particulier pour la santé humaine. Pour atteindre cet objectif, de nombreux projets de recherche nationaux et européens tentent en particulier de développer une approche intégrée des expositions et des risques liés aux mélanges de substances chimiques. La connaissance de l'exposome peut donc faire évoluer l'évaluation des risques afin qu'elle réponde au mieux aux questions scientifiques et sociétales actuelles.

Les nombreuses questions et échanges au cours de cette journée enrichissante ont montré l'intérêt du public présent pour cette thématique. Il faut souligner qu'il s'agit d'un domaine en pleine évolution qui soulève pour l'instant plus de questions que de réponses. En cette période où les problèmes environnementaux (changement climatique, pesticides, perturbateurs endocriniens, etc) sont sujets à discussions scientifiques, sociétales, économiques et politiques, ces études à grande échelle sur l'exposome et sur les épigénomes qui en résultent devraient permettre dans le futur de rapides avancées en santé humaine et animale et en agronomie.

Biotechnocentre remercie l'ensemble des personnes ayant permis l'organisation de cette journée et, tout particulièrement, les conférencières et conférenciers qui ont accepté de l'animer. Cette journée **accessible gratuitement** a été rendue possible par un financement de la Région Centre-Val de Loire que nous remercions vivement.

B.C., H.S. & N.G.



Trois questions à Stephen Foster, chercheur « Le Studium »

• Who are you ? What is your background ?

I am Stephen Foster, professor in entomology from North Dakota State University (USA). I grew up in New Zealand and studied pure chemistry at university. After my PhD, I obtained a position in the Entomology Division of the New Zealand DSIR (equivalent of CNRS). I was fortunate to learn about insect chemical communication from one of the world's leading researchers in the field, Prof. Wendell Roelofs of Cornell University, who started a sabbatical in New Zealand just after I started working on (and learning about) insects. My work in New Zealand focused on the identification of insect sex pheromones for use as control methods against various insect pests of New Zealand fruits and other crops.

I started as Associate Professor in the Department of Entomology at North Dakota State University in 2000 and was appointed

to full Professor in 2007. I teach insect physiology to graduate students. My research has focused on physiological/biochemical aspects of chemical production/sequestration in insects (and occasionally carotenoids in birds!). In recent years, I have developed mass spectrometric methods using stable isotope (non-radioactive, uncommon isotopes of common elements) tracers for studying insect metabolism *in vivo* (within the whole insect). I am an Associate Editor of the Journal of Chemical Ecology and have served as both Secretary and President of the International Society of Chemical Ecology.

LE STUDIUM

Loire Valley
Institute for Advanced Studies

• What is the purpose of your visit in the Center-Val de Loire region ?

The main aim of my visit to the region is to apply stable isotope tracer methods

to different insect physiological systems/problems and to transfer these methods to the laboratory of my host, Prof. Jerome Casas, IRBI, Université de Tours. Furthermore, we will attempt to combine Prof. Casas's expertise in quantitative physiological modeling with our empirical data to model, at least partially, metabolite flux through these physiological systems. We will study two systems: (i) host feeding and nutrient allocation in the parasitoid wasp *Eupelmus vil-*



leti and (ii) pheromone storage and emission mechanisms in a moth.

For this work, we will devise methods for introducing stable isotope tracers into the physiological systems and, if successful, use the tracer techniques to quantify the fate of nutrients, such as carbohydrates and proteins, in specific metabolites (fats, excreta, pheromone) in the different insects. This should allow us to quantify how important these nutrients are to the different physiologies and whether they vary with context

(age, physiological status, storage, behavior, etc.) During this work, I will work closely with IRBI staff and students to ensure they learn and understand the stable isotope

tracer/tracee techniques and analyses. I also intend to write some papers with Prof. Casas that synthesize some of our ideas on metabolic dynamics in insects.

- **Which kind of last-lasting relations do you envisage with our region ?**

In fact, I already have long-lasting relations with the region! In 2015, I did a one-year sabbatical at IRBI (with the kind assistance of Le Studium) working with Dr. David Giron (now Director of IRBI). During this time, Prof. Casas and I realized we shared complementary interests in insect physiology, he with his quantitative skills and I with my stable isotope techniques. We continued to collaborate on projects over the subsequent years, producing several joint papers and helping/advising students with projects. Therefore, this visit is a continuation and reinforcement of our mutually productive relationship. On a personal level, I am very happy to be back in the region, which is a truly fascinating part of the world. I am very grateful to Le Studium for this opportunity.

Propos recueillis par A.M.



Stephen FOSTER

LE STUDIUM Loire Valley Institute for Advanced Studies

Institut de Recherche sur la Biologie des Insectes (IRBI), UMR 7261 CNRS-Université de Tours

« Biomolécules et Biotechnologies Végétales » (BBV), EA2106 - Université de Tours



L'unité EA2106 « Biomolécules et Biotechnologies Végétales » (BBV) est une équipe propre de l'Université de Tours, située sur le campus de Grandmont à Tours. Elle consacre ses recherches au métabolisme spécialisé des plantes et à leur valorisation dans plusieurs secteurs industriels. Un des objectifs de BBV a été d'élaborer en son sein une chaîne de valeur allant d'une recherche fondamentale sur le criblage et l'identification de nouvelles molécules à très haut potentiel et des voies de biosynthèse associées, vers le développement de procédés visant à bioproduire ces métabolites d'intérêt dans des cellules usines végétales ou fongiques. Cette chaîne de valeur est aujourd'hui complétée par la maîtrise des premières étapes d'une montée en échelle de production en bioréacteurs afin de faciliter le transfert vers ses partenaires industriels. BBV bénéficie d'un fort soutien régional à travers le financement de nombreux projets ainsi qu'une interaction privilégiée avec le BIO3 institute.

Un peu d'histoire ...

L'équipe Biomolécules et Biotechnologies Végétales (BBV-EA2106) a été créée en 1996 sur la base de l'équipe mise en place en 1987 par le Pr Jean-Claude Chénieux. BBV repose sur la réunion des enseignants-chercheurs des Facultés des Sciences et techniques et de Pharmacie désireux d'explorer une thématique commune basée sur l'étude du métabolisme spécialisé des végétaux, à l'origine de molécules possédant des activités thérapeutiques. Dans le paysage régional, BBV entretient une étroite relation avec Biotechnocentre, puisque le Pr Jean-Claude Chénieux en est un des membres fondateurs et est membre d'honneur permanent au sein du bureau, au côté de l'actuelle directrice de BBV, le Pr Nathalie Giglioli-Guivarc'h. Depuis 2004, tous les personnels ont été réunis dans un laboratoire commun de la Faculté de Pharmacie mutualisant ainsi les infrastructures, les moyens techniques et favorisant une émulation scientifique des plus productive et novatrice. Ce rapprochement a permis au fil du temps l'émergence de nouveaux projets qui ont progressivement refaçonné cette équipe lui conférant une reconnaissance internationale dans le domaine

du métabolisme spécialisé des plantes. Le positionnement de BBV en tant que seule équipe de sciences végétales de l'Université de Tours a été également moteur à l'établissement de nombreuses interactions locales, tant académiques qu'avec le tissu industriel, permettant le développement de projets collaboratifs s'inscrivant dans les priorités thématiques supportées par la Région Centre-Val de Loire. Ces projets sont à ce titre inscrit dans trois des programmes ARD régionaux : Biomédicaments, Cosmétosciences et Intelligence des patrimoines. Ces rapprochements ont par conséquent impacté les enjeux et les orientations scientifiques de l'équipe au cours de ces dernières années et ont favorisé le développement de multiples collaborations nationales et internationales.

Enfin, de par le statut universitaire des membres de l'équipe, et dans l'objectif de transmettre aux étudiants certains des savoirs qu'elle développe, BBV propose aujourd'hui une offre de formation à travers trois masters, tous directement en lien avec les évolutions de ses objectifs scientifiques. C'est ainsi que BBV porte le master « Biotechnologies et Droit », créé en 2005

et dédié à la propriété intellectuelle dans le domaine des biotechnologies ; le master « Management des bioproductions », créé en 2019 et formant aux procédés de bioproduction en

bioréacteurs, et le master « Plantes et société » également créée en 2019, qui remet le végétal au cœur des nombreuses activités humaines.

BBV face aux enjeux sociétaux...

Le projet scientifique global de BBV porte sur des aspects fondamentaux incluant l'étude, la découverte, la caractérisation et la compréhension de certains métabolismes spécialisés de plantes d'intérêt, en lien avec leur possible valorisation dans les domaines de la pharmacie, la cosmétologie ou encore l'agronomie. Ce projet répond à certains enjeux sociétaux qui s'inscrivent aujourd'hui dans deux programmes nationaux de haute importance : 1) sécuriser l'approvisionnement de certains médicaments régulièrement en rupture de stock comme par exemple des anticancéreux et, 2) répondre au besoin croissant de naturalité des produits cosmétiques et des produits phytosanitaires afin de diminuer l'impact global des molécules issues

de l'industrie chimique sur la santé et sur l'environnement. Dans cette optique, BBV a donc développé, parallèlement à ses recherches fondamentales, des approches de biotechnologies et d'ingénierie métabolique pour mettre en place des moyens de bioproduction de molécules à haute valeur ajoutée, alternatifs à l'utilisation de la plante. Cette stratégie concerne non seulement la production d'anticancéreux mais également d'extraits végétaux plus complexes intégrés dans la formulation de nouveaux cosmétiques ou de produits phytosanitaires naturels. Afin d'être en accord avec ces attentes sociétales, la majorité des projets menés par BBV se font en partenariat avec plusieurs acteurs industriels du territoire.

Les projets de recherche ...

BBV regroupe plus de 40 membres dont 25 membres permanents enseignants-chercheurs et personnels techniques appartenant à la faculté des Sciences et Techniques ou à la faculté des Sciences Pharmaceutiques, et de nombreux

doctorants et post-doctorants de plusieurs nationalités. Tous sont impliqués dans des projets de recherche concernant le métabolisme spécialisé des plantes. La recherche de BBV est actuellement divisée en quatre axes thématiques.

1.

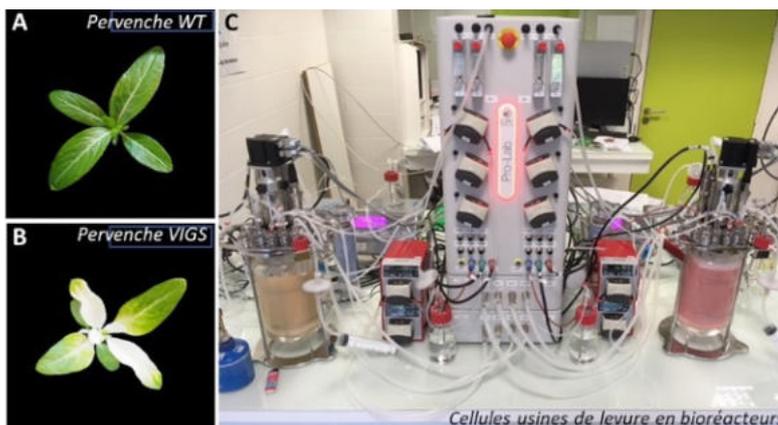
Un premier axe de recherche porte sur l'élucidation et la valorisation du métabolisme des alcaloïdes anticancéreux produits par la Pervenche de Madagascar.

Il s'agit de la thématique historique du laboratoire. La Pervenche synthétise des alcaloïdes indoliques monoterpéniques (AIM) cytotoxiques tels la vinblastine et la vincristine dont le pouvoir anticancéreux est depuis longtemps, et encore actuellement, utilisé dans de nombreux protocoles thérapeutiques. Un des plus anciens objectifs de BBV est de procéder à la caractérisation de la voie de biosynthèse de ces AIM via l'identification des différentes enzymes qui la composent. La voie des AIM de la Pervenche en comporte plus d'une quarantaine. Une avancée majeure réalisée ces toutes dernières années, à laquelle a très largement contribué BBV, a été de finaliser l'identification intégrale de cette voie, la plaçant ainsi au rang de modèle. Ce travail a notamment nécessité la mise

en place de plusieurs outils technologiques dédiés, depuis les approches de prédiction de gènes candidats par analyses transcriptomiques, génomiques et bioinformatiques (Sci Rep, 2018 et 2019, Liesecke et al), jusqu'à celles de génétique inverse par virus-induced gene silencing (VIGS, Methods Mol Biol, 2020, Cruz et al). Ces travaux ont également été supporté par l'établissement de nombreuses collaborations avec des partenaires académiques internationaux et souligné par des publications dans les meilleures revues scientifiques. En particulier, une intense collaboration avec le Pr S. O'Connor (Max Planck Institute - Jena) a permis de mener à bien l'identification de plusieurs enzymes majeures de la voie de biosynthèse des AIM (Science, 2018 Caputi et al; Nat Commun, 2017 Tatsis

et al), et de l'étendre à des voies métaboliques d'AIM d'autres apocynacées.

Enfin, basé sur ce prérequis de l'élucidation des voies de biosynthèse, BBV développe des approches de bioproduction des AIM anticancéreux par des méthodes d'ingénierie métabolique. Le principe repose sur le transfert de gènes des voies de biosynthèse d'AIM dans une souche de levure afin de lui conférer la capacité de production de ces molécules. Les projets propres à BBV sur les AIM de la Pervenche, initiés dans le cadre de l'ARD 2020 Biomédicaments, ont ouvert la voie vers d'autres apocynacées d'intérêt comme *Rauwolfia tetraphylla*, qui fait l'objet du projet H2020 MIAMI porté par l'Université Technique du Danemark et dont BBV est le principal partenaire pour l'élucidation des voies de biosynthèse et la culture des levures en réacteurs. C'est d'ailleurs dans le cadre de ce projet européen que des premières souches de levures productrices viennent d'être établies (Nature 2022, Zhang et al). Fort de cette nouvelle expertise, BBV décline désormais les approches d'ingénierie métabolique à d'autres métabolismes spécialisés que celui des alcaloïdes, comme par exemple celui des lignanes, pour le bioproduction de podophyllotoxine (projet ETOPOCENTRE, ARD CVL Biomédica-



ments), un autre anticancéreux.

L'ensemble de ces travaux est également la base d'une forte collaboration de BBV avec le groupe industriel Axyntis, installé en Région Centre-Val de Loire, qui ambitionne d'implanter une unité de bioproduction d'AIM anticancéreux sur son site. Enfin, depuis 2022, dans le cadre d'un projet ANR PRC (MIACYC) porté par BBV, l'équipe vise à renforcer son expertise d'élucidation de nouvelles voies de biosynthèses. Les études proposées dans ce projet, principalement fondamentales et basées sur une nouvelle méthodologie d'élucidation des voies métaboliques, permettront entre autres d'alimenter dans le futur le développement d'une production durable de ces composés et de leurs dérivés potentiels grâce à l'ingénierie métabolique de la levure.

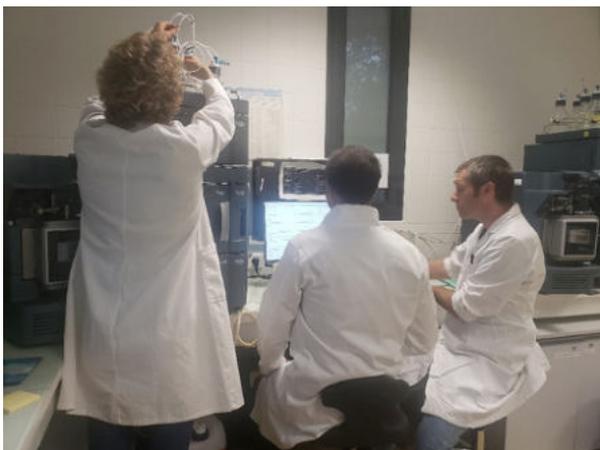
2.

Un second axe de recherche de BBV concerne l'étude du métabolisme des polyphénols de la vigne et leur valorisation.

Le développement de cet axe, plus récent à l'échelle de l'histoire de l'équipe, a permis d'ancrer définitivement cette thématique au sein de BBV et de répondre en grande partie aux attentes régionales d'un investissement de la recherche en région dans le domaine de la viticulture durable, comme en témoigne l'appui de la région avec la mise en place du cluster régional VinOpôle. Les recherches dans ce domaine menées par BBV sont également fortement soutenues par la Région Centre-val de Loire à travers plusieurs projets financés ces dix dernières années. L'objectif scientifique de BBV, porté par des approches d'analyses métabolomiques, est d'évaluer la richesse et la diversité moléculaire

d'extraits issus de différents cépages de vigne afin de développer des extraits enrichis en polyphénols à activité antifongique.

La particularité des projets de BBV est de proposer une valorisation des coproduits peu valorisés de la vigne comme par exemple à partir de sarments de vigne (Plants, 2020, Billet et al ; Pest Manag Sci., 2019, Billet et al). La finalité est d'élaborer des extraits naturels comme solution pour réduire l'utilisation des intrants phytosanitaires chimique en viticulture. Aux approches analytiques s'associent in fine des tests d'efficacité des extraits au champ. Le projet porté par BBV de valorisation de coproduits viticoles pour le biocontrôle, établis selon



Plateforme d'analyse phytochimique de BBV

un schéma d'économie circulaire, fait actuellement l'objet d'un programme de maturation technique et économique (projet LOCASARM) en collaboration étroite avec les groupes industriels locaux Cérience et Indena.

Le développement de cet axe, en lien initialement avec l'ARD Intelligence des patrimoines, a été l'occasion de développer des outils technologiques dédiés à la métabolomique de la vigne couplée à des analyses chimiométriques. Il repose sur des collaborations régionales originales notamment en géologie (GéhCO EA6293)

afin de caractériser les variations métabolomiques de la vigne en fonction du terroir et également en histoire (CITERES-LAT UMR7324 CNRS) pour la caractérisation métabolomique de cépages rares et anciens du Val de Loire (projets VITITERROIR et CEPATLAS).

Enfin, des collaborations nationales avec le Centre de Ressources Biologiques de la vigne (CRB) de Vassal-Montpellier et l'Union pour les Ressources Génétiques du Centre-Val de Loire (URGC) permettent aujourd'hui d'amorcer des études globalisées sur la diversité métabolomique des cépages sous l'influence de facteurs génétiques et environnementaux. D'autre part, le développement des approches métabolomiques sur la vigne a aussi permis à BBV d'établir de nouvelles collaborations à l'international avec le Pr. Hernani Géros (Université du Minho, Portugal) ou avec le Dr. Yorgos Kotseridis (Université d'agriculture d'Athènes, Grèce), qui ouvrent la voie à des études métabolomiques élargies au niveau de la plante (bois, raisins, feuilles et pépins) et dont l'objectif est d'évaluer l'impact, sur la qualité des produits de la vigne, de nouvelles méthodes agronomiques dans un contexte de changement climatique (Food Chem, 2020, Martins et al).

3.

Le troisième axe de recherche repose sur l'expertise de BBV dans l'établissement et la caractérisation métabolique de cultures végétales *in vitro*, développées aujourd'hui à des fins de production d'ingrédients cosmétiques.

Cet axe s'inscrit également dans l'histoire de BBV et repose sur son expertise ancienne et reconnue en cultures *in vitro* végétales. En effet, BBV développe de longue date des cultures cellulaires végétales de plantes médicinales dans le but de proposer une production contrôlée de métabolites spécialisés d'intérêt pharmaceutique. Cependant, devant l'efficacité relative de ces systèmes à produire les molécules ciblées, souvent très complexes, BBV s'est orienté progressivement vers des approches d'ingénierie métabolique telles que décrites dans le premier

axe. Cependant, la montée en puissance du « tout naturel » dans les produits cosmétiques en réponse à la défiance des consommateurs pour les ingrédients d'origine chimique, a relancé depuis une dizaine d'année la recherche par



les fournisseurs d'ingrédients, d'extraits issus de biomasses végétales de différentes origines, incluant des origines biotechnologiques. La Région Centre-Val de Loire, en s'appuyant sur le pôle de compétitivité Cosmetic Valley, s'est clairement positionnée dans son soutien à la recherche dans le domaine des cosmétiques (ARD Cosmétosciences). Ainsi, dans ce contexte, BBV oriente désormais une grande partie de ses travaux basés sur la maîtrise de la culture *in vitro*, vers la production d'extraits végétaux par des cultures cellulaires végétales. L'originalité de BBV est de cibler entre autres des plantes appartenant au patrimoine végétal local, s'avérant rares ou très peu cultivées. Ainsi, forte du partenariat dans le projet VALBIOCOSM (ARD2020 Cosmétosciences) avec l'ICOA (UMR7311, Orléans) ; le CBM (CNRS UPR4301, Orléans) et le LBLGC (EA1207, Chartres), BBV promeut son expertise sur la mise en place de cultures cellulaires végétales de plantes d'intérêt pour la cosmétique et développe des approches d'optimisation de leurs conditions de culture. L'objectif est de produire des extraits dont la composition métabolique peut être contrôlée et associée à des activités biologiques différentes et de pre-

mier intérêt pour des applications cosmétiques (Front Plant Sci, 2020 Bose et al). Ces travaux sont la base d'une solide collaboration avec le groupe Sederma, spécialiste de biotechnologies végétales et fournisseur d'ingrédients pour les industriels de la cosmétique.

Cette expertise, combinée à la connaissance du métabolisme de la vigne acquise par BBV, a permis d'ouvrir récemment l'équipe à de nouveaux projets collaboratifs (VINOCOSM, INNOCOSM : ARD CVL Cosmétosciences) sur l'intérêt de culture *in vitro* de cépages de vigne rares comme base de la production d'ingrédients cosmétiques. Ces travaux s'appuient sur une collaboration avec la société Evonik Advanced Botanicals nouvellement installée en Région Centre-Val de Loire, mais également sur de solides collaborations internationales notamment avec le Pr Bilal Abbasi de l'Université d'Islamabad et avec le Dr Magdalena Malinowska de l'Université Technologique de Cracovie qui ont bénéficié de programmes du STUDIUM pour séjourner plus d'une année au sein de BBV. Ses collaborations sont à l'origine de nombreuses co-publications (Molecules 2022, Ferrier et al ; Molecules 2020, Malinowska et al).

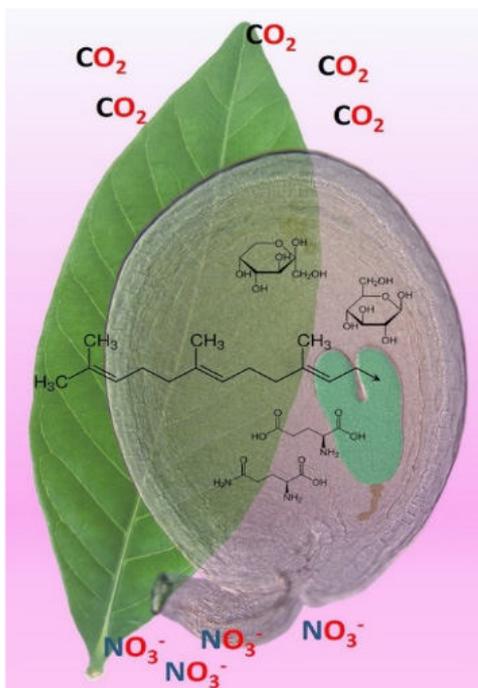
4.

Le quatrième axe de recherche, porte sur l'identification et la caractérisation fonctionnelle de protéines prénylées.

Il s'agit d'une thématique implantée au sein de l'équipe suite à la mise en évidence de l'implication de la prénylation de protéines dans la régulation du métabolisme des AIM chez la Pervenche. Une étude approfondie des enzymes impliquées dans cette modification post-traductionnelle avait alors été réalisée, mais le peu de ressources génomiques disponibles à l'époque sur cette plante a constitué un frein pour décrypter les protéines impliquées dans les mécanismes de régulation de la biosynthèse des AIM par prénylation. BBV s'est alors attaché à mettre au point une méthode spécifique d'étude des protéines prénylées sur la plante modèle *Arabidopsis thaliana* (Methods Mol Biol, 2022, Ribeiro et al), ce qui a entraîné une réorientation de l'étude sur ce modèle végétal et a permis, au sein de l'équipe, l'accélération de la caractérisation de l'impact des prénylations de protéines sur le développement et le métabolisme végétal (PCE, 2016, Dutilleul et al). Dans ce contexte,

la caractérisation de la protéine prénylable ASG2 impliquée dans un profil graine « obèse » (Genetics, 2017, Ducos et al) a amené BBV à caractériser l'effet de la prénylation de protéines dans le métabolisme des graines (Front. Plant Sci., 2021, Vergès et al). Cette étude basée sur des mutants de prénylation a été renforcée par la mise en place de collaborations avec l'Institut Jean-Pierre Bourgin (INRAE, AgroParisTech, Versailles), l'équipe Nutrition, Croissance et Cancer (INSERM UMR 1069, Tours), le Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology (Yale University, USA) et a fait l'objet du projet régional OLEOPREN.

Actuellement, les études menées dans cet axe, supportées par de nouvelles collaborations avec des équipes locales (LBLGC EA1207, Orléans et l'UMR7267, Poitiers) permettent d'éclaircir l'influence de la prénylation de protéines sur le métabolisme primaire en y intégrant des paramètres environnementaux comme la nutrition



Influence du CO₂ atmosphérique et du NO₃⁻ sur le métabolisme des feuilles et de la graine

azotée (Plant Growth Regul., 2022, Bellenger et al) et l'augmentation de CO₂ atmosphérique. Ainsi, l'ensemble de ces résultats suggèrent de façon originale que la prénylation de protéines pourrait renfermer des éléments clés pour adapter les plantes cultivées aux nouvelles pratiques culturales répondant aux changements environnementaux. Actuellement, le projet Acti-LIN, porté par le LBLGC-EA1207 (Orléans) et pour lequel BBV, est partenaire, porte sur l'étude de l'importance des prénylations de protéines dans le lin, une plante d'intérêt pharmaceutique, cosmétique et industriel. Ainsi, bénéficiant de nouvelles connaissances et de nouvelles ressources, BBV vise désormais à identifier l'impact des changements environnementaux sur la production métabolique de plantes médicinales. Dans ce contexte, BBV adresse à nouveau la question fondamentale du rôle de ces métabolismes pour la plante et pour son adaptation à des modifications environnementales.

En conclusion, les projets de recherche développés par BBV ont remis au cœur de ses préoccupations des approches très fondamentales sur l'étude du métabolisme spécialisé des végétaux et de leur rôle pour la plante tout en ouvrant les champs d'applications de ces métabolites à d'autres secteurs que celui de la santé. Les quatre axes de recherche menés au sein de BBV au cours de ces dernières années ont ainsi permis de confirmer la stratégie élaborée par l'équipe en réponse à des enjeux sociétaux forts et de consolider ses nouvelles orientations scientifiques. Les changements initiés ont porté leurs fruits tant au niveau des publications, des succès de réponse aux appels à projets locaux, nationaux et européens que dans l'établissement de nouvelles collaborations académiques et industrielles. L'ensemble de ces travaux a également consolidé une reconnaissance internationale de nouvelles expertises de l'équipe dont la bioingénierie en levure de voies de biosynthèse conduisant à la production de métabolites spécialisés à haute valeur ajoutée, une revisite de la culture *in vitro* végétale, ainsi que l'analyse métabolomique de polyphénols qui seront largement exploitées et consolidées dans les projets futurs de BBV.



Contact : Pr Nathalie GIGLIOLI-GUIVARCH
 Directrice de BBV, Université de Tours
nathalie.guivarch@univ-tours.fr
 Site web : bbv-ea2106.sciences.univ-tours.fr

Marcin SUSKIEWICZ, un jeune chercheur CNRS talentueux fraîchement recruté au Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), UPR4301, Orléans



Marcin Suskiewicz a été sélectionné pour une bourse de recherche Le Studium sur un projet intitulé « Ubiquitin's Secretive Sibling : Sumo E3 Ligases & Sumo-Dependent Complex Formation In DNA Repair And Beyond ». Il s'est trouvé dans l'obligation de décliner ce soutien financier suite à son recrutement comme Chargé de recherche CNRS en novembre 2021



au Centre de Biophysique Moléculaire du CNRS à Orléans dans l'équipe « Modifications post-traductionnelles des protéines et réparation de l'ADN » qu'il anime désormais avec Bertrand Castaing.

• Who are you ? What is your background ?

My name is Marcin Suskiewicz, and I am a newly recruited CNRS researcher in the group of Bertrand Castaing at the Centre de Biophysique Moléculaire (CBM) in Orléans. I was born in Poland, where I completed all my schooling and where my parents and siblings live. I have fond memories of my education in Poland, especially in chemistry, which was my favourite subject back then. At the age of 19, I went to the UK to study biochemistry at the University of Oxford. During and directly after my degree I did my first research projects, including one at the Weizmann Institute in Israel. After that, I joined Tim Clausen's group at the IMP in Vienna, where I completed my PhD and then stayed for three more years as a postdoc. My second postdoc was back in Oxford, in Ivan Ahel's group, at Sir William Dunn School of Pathology. I guess I could describe myself as a biochemist and a structural biologist with a particular interest in protein post-translational modifications, because that is a recurrent theme that

goes through all my main projects so far. We all know that proteins are built of amino acids in the process called translation, but often that is not the end of the story. After translation (so "post-translationally"), proteins can be modified with additional elements (individual chemical groups or even small proteins), which are attached to surface amino-acid residues by specific enzymes. These modifications can impact the function of a protein by changing its activity or inducing new interactions. For example, the modification that I worked on during my PhD – protein arginine phosphorylation – serves as a degradation signal in bacteria: proteins that are modified in this way become recruited to a specific protease and degraded.

LE STUDIUM

Loire Valley
Institute for Advanced Studies

• Why did you choose the CNRS to pursue your research ? What are the circumstances that led you to apply for a CNRS position at the Centre de Biophysique Moléculaire d'Orléans ?

It is a good question because, until I moved here in November 2021, I had not any direct experience of working in the French research system. Except, of course, for several brief visits to the ESRF synchrotron in Grenoble, where – like most European crystallographers – I collec-

ted some of the data for my past projects. The existence of these large accessible platforms is, by the way, something characteristic of the French science, not only crystallography, and one of its assets. But except for these visits, the image I had of the French research scene was



Bertrand et Marcin au CBM à Orléans en janvier 2022

mainly based on the things I read or heard. I knew about the rich French intellectual history, I knew about Monod and Jacob, and I knew, of course, about some current experts from my own and other fields who work in France. But perhaps most of all, I was curious about the way in which the science is organised here. I guess every system has its advantages and disadvantages, but the French one, by offering each permanent researcher some measure of stability and independence, seemed to me to be quite democratic and to encourage creative thinking. Now that I work here, I can say that it still feels to me that way! Having said all that, there was also a personal reason: my wife Mathilde is French, and I had promised her long time ago that one day we would live with our two daughters in her homeland.

The path that led to my current position started with a job advertisement that I saw about three years ago. During my first visit to Orléans, I was impressed by the city, the CNRS campus, and the

CBM itself, which, despite its small, welcoming size, gathers people with a broad range of expertise, from chemical synthesis through biophysical methods such as NMR, mass spectrometry or crystallography to cell biology and even animal models. The researchers and engineers I met seemed very intelligent but also humble and friendly, and they were willing to help me with my CNRS application, which was the next step after being selected by the CBM as their candidate.

The choice of Bertrand Castaing's group in particular is related both to the techniques that they use (biochemistry and crystallography) and the area of biology that they specialise in (DNA repair). I mentioned above that I have long been interested in protein post-translational modifications. These regulatory mechanisms are implicated in all biological processes, but they are particularly important for DNA repair. In DNA repair – unlike in some other enzymatic processes – the substrate that the enzymes work on (genomic DNA) is much larger than the enzymes and very slowly diffusing, so it is the enzymes that come to the DNA damage, not the other way round, and they have to come in the right order. In eukaryotic cells, the process of recruitment and departure of repair enzymes is regulated in part by post-translational modifications. This is exactly what I worked on during my most recent postdoc and what I would like to continue working on in the future.

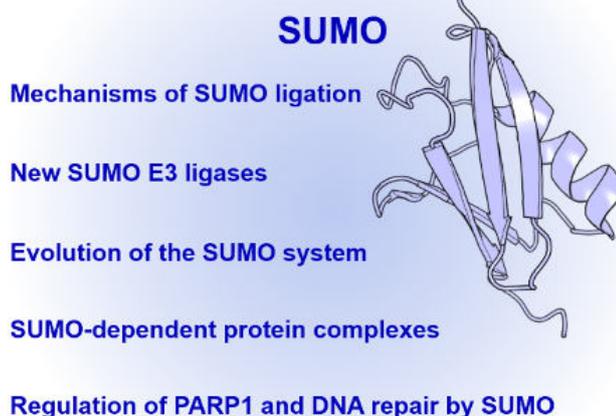
• What are the axes of the research projects you wish to develop in Orléans and how do they fit in the global project of your host laboratory and more widely in the scientific environment of the Centre-Val de Loire region ?

There is a special class of protein post-translational modifications, where proteins are actually modified with... other proteins. One of these processes is protein SUMOylation, which involves the attachment of a small protein mo-

difier with a somewhat amusing name: SUMO. This molecule will be at the centre of my future projects. How is its ligation to substrates catalysed? Are there more enzymes that can do this beyond the ones that we already know? And,

last but not least, how does SUMOylation regulate the process that we study in Bertrand Castaing's group: DNA repair? On the last point, I am particularly interested in the SUMOylation of one specific human DNA-repair protein called PARP1, which is an important cancer drug target.

Interestingly, SUMO is already studied at the CBM – by the group led by Hélène B  n  detti, who recently showed that their favourite protein is SUMOylated in cells, and by Vincent Aucagne, who developed a way to synthesise SUMO using chemical methods. I would love



to collaborate with both of them on some aspects, while developing my own structural-mechanistic programme within Bertrand's group. Actually, SUMO is a good topic for a collaborative project in an interdisciplinary laboratory like the CBM, because it can be studied with

biochemical and cellular techniques, but at the same time it is small enough to be synthesised in a chemical laboratory and analysed with NMR. The broader Centre-Val de Loire region – which is now dynamically developing – offers further opportunities for collaboration, especially related to the medical angle of the project.



Marcin Suskiewicz est laur  at du programme ATIP-Avenir 2022 et vient de passer son entretien oral en dernière phase du concours ERC-Starting Grant 2022. L'arrivée du Dr Marcin Suskiewicz dans un laboratoire CNRS    Orléans témoigne à

n'en pas douter du dynamisme et de l'attractivité de la recherche en Région Centre-Val de Loire.

Propos recueillis par B.C.



Marcin Josef Suskiewicz

Centre de Biophysique Moléculaire
UPR4301 CNRS, rue Charles Sadron
45071 Orléans cedex 02

M  l : Marcin.suskiewicz@cnrs-orleans.fr
Tél : 02 38 25 55 67

F-SELEX : une plateforme robotisée pour l'évolution moléculaire dirigée de motifs ARN fonctionnels

Par Mildred Delaleau, Eric Eveno et Marc Boudvillain

La crise sanitaire que nous connaissons depuis l'hiver 2020 a mis en exergue l'intérêt thérapeutique que les molécules d'ARN pouvaient représenter. Mais les ARN messagers, et leur emploi comme principe actif dans des formulations vaccinales, ne constituent pas la seule modalité thérapeutique d'intérêt ; de nombreux ARN « non-codants » (ARN interférents, antisens, aptamères) offrent également des solutions élégantes de ciblage spécifique et représentent une part conséquente des efforts de R&D consacrés aux ARN thérapeutiques¹. Souvent rassemblés de façon indiscriminée dans la catégorie « oligonucléotides », du fait de leur taille raisonnable et facilement accessible

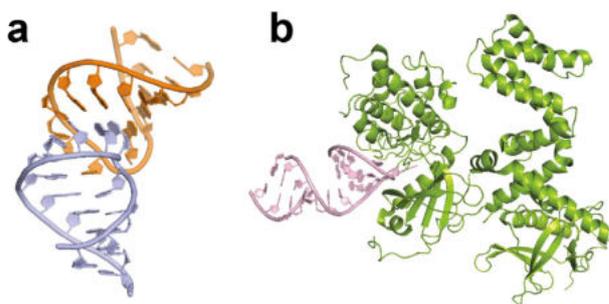


Figure 1 : les ARN utilisent des modes de reconnaissance moléculaire variés pour interagir avec leur cibles. Exemples de cibles : (a) motif TAR du VIH (en orange) ; (b) kinase GRK2 (en vert).

par synthèse chimique, ils exploitent en réalité des mécanismes biologiques variés. Ces derniers reposent sur un appariement de type Watson-Crick avec la cible, une interaction avec celle-ci via la formation d'une structure ARN hautement spécifique, ou un mélange de ces deux modes de reconnaissance moléculaire (**Figure 1**). Cette grande versatilité d'interaction permet un répertoire fonctionnel très varié, aussi bien pour les ARN naturels que synthétiques. Diverses

stratégies expérimentales ont été développées pour explorer et/ou exploiter ce potentiel, la plus connue étant sans doute l'approche SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) détaillée ci-dessous.

1.

SELEX, une approche d'évolution moléculaire dirigée pour la découverte d'ARN d'intérêt

Décrite pour la première fois en 1990 simultanément par deux groupes américains concurrents, la technologie SELEX est une approche de choix pour découvrir des ligands ARN, appelés aptamères, possédant de nouvelles fonctionnalités³. Ces ligands sont isolés à partir de grands pools de séquences ARN, en partant du principe que chaque séquence du pool a un repliement tridimensionnel, et donc des propriétés d'interaction, qui lui sont propres. Ainsi un pool de séquences de 20 nucléotides complètement randomisés contient une diversité structurale théorique de 4^{20} , c'est à dire $\sim 10^{12}$ structures différentes.

Dans une expérience SELEX classique, ce pool de séquences très diverses est incubé avec la cible d'intérêt (une protéine par exemple). La cible est généralement immobilisée sur un support (le plus souvent des billes magnétiques)

pour permettre la purification des complexes qu'elle forme avec certaines séquences du pool d'ARN (**Figure 2**). Les candidats ARN présentant une affinité intéressante pour la cible sont généralement assez rares, mais la plupart des séquences non-affines est éliminée avec le surnageant. Les candidats sélectionnés (par liaison à la cible) sont ensuite amplifiés par RT-PCR à l'aide de deux séquences fixes qui encadrent la région variable au sein de chaque molécule ARN du pool (**Figure 2**). Cette étape essentielle assure un enrichissement exponentiel des séquences sélectionnées et, après transcription, la création d'un nouveau pool enrichi en motifs ARN d'intérêt. Ce pool est soumis à un nouveau cycle de sélection-amplification et le processus est répété de manière itérative jusqu'à ce que le pool de séquences ARN soit suffisamment enrichi en aptamères spécifiques de

la cible. Cette spécificité peut être accrue par l'augmentation de la « stringence » (sévérité) de sélection au fur à mesure des cycles (en accroissant la force ionique et/ou la température, par exemple) mais également par l'introduction de cycles de contre-sélection, par exemple en utilisant des billes non greffées (ou greffées avec une molécule distincte de la cible). Dans ce dernier cas, ce sont les candidats présents dans le surnageant de contre-sélection qui sont conservés et amplifiés pour le cycle suivant. Au cours des itérations SELEX, la composition des pools et le degré d'enrichissement en séquences gagnantes sont généralement évalués par séquençage haut-débit, ce qui permet également l'identification bio-informatique de clusters de séquences similaires et la définition de motifs aptamères consensus.

Ce principe d'enrichissement itératif est finalement assez simple mais très efficace, et de très nombreux aptamères, pour de très nombreuses cibles de natures très variables (du simple ion inorganique au tissu cellulaire), ont été créés à l'aide de l'approche SELEX³. Ces aptamères peuvent présenter un intérêt diagnostique ou thérapeutique et divers spécimens sont en phase d'évaluation clinique (l'un d'entre eux, le Macugen, a obtenu une autorisation de mise sur le marché pour le traitement de la DMLA). Au-delà de ces applications diagnostiques ou thérapeutiques, l'approche SELEX est également un formidable outil de recherche fondamentale. Elle permet la découverte de nouveaux repliements ARN tridimensionnels et peut également servir

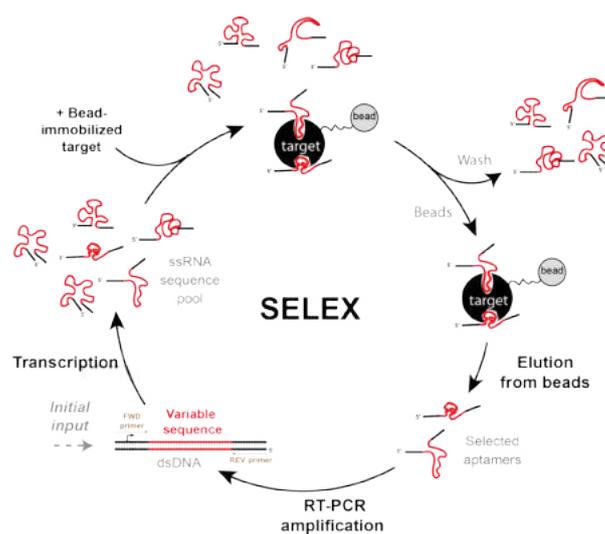


Figure 2 : Cycle SELEX classique. Les aptamères sont isolés par affinité pour la cible et amplifiés par RT-PCR pour un enrichissement itératif.

à identifier les substrats naturels de protéines se liant à l'ARN. Ainsi, le groupe de Larry Gold a développé une variante « Genomic SELEX » dans laquelle le pool ARN de départ provient de la transcription de fragments d'ADN d'origine génomique⁴. Il est ainsi possible d'interroger l'ensemble du potentiel de séquence contenu dans un génome (et non pas uniquement ce qui serait transcrit à un instant donné) à la recherche de motifs se liant à une protéine d'intérêt. Appliqué à l'ARN chaperonne Hfq d'*Escherichia coli*, Genomic SELEX a par exemple permis l'identification d'un motif ARN consensus, 5'-AAYAAYAA-3', conférant une haute affinité (nano-molaire) pour la protéine Hfq⁵.

2.

Des variantes 'F-SELEX' reposant sur un principe de sélection fonctionnelle

De très nombreuses variantes de l'approche SELEX ont été développées pour répondre à des besoins spécifiques. Certaines variantes se distinguent particulièrement car elles abandonnent le principe de sélection par affinité au profit d'une sélection reposant sur une réaction chimique ou biochimique. On parle alors de SELEX fonctionnel (functional SELEX [F-SELEX]) car les candidats doivent répondre à un critère de réactivité plus complexe (fonction (bio)chimique). Un exemple pionnier et emblématique de F-SELEX a conduit à l'élaboration de ribozymes (ARN catalytiques) possédant une activité ligase (**Figure 3**)². Les séquences de ces ribozymes 'ligase' de première génération ont orienté le design de nouveaux

pools 'biaisés' de séquences ARN qui, à l'aide de stratégies F-SELEX de plus en plus sophistiquées, ont permis la sélection de ribozymes à activité 'ARN polymérase' capables de s'auto-répliquer⁶. Ces objets moléculaires remarquables contribuent à supporter l'hypothèse d'un monde ARN primitif où l'ensemble des fonctions biochimiques nécessaires à la vie auraient été assurées par des ribozymes. De nombreux autres ribozymes ont été découverts par des approches de F-SELEX, certains contribuant à une meilleure compréhension fondamentale du vivant, d'autres en permettant la manipulation et présentant un intérêt biotechnologique évident. On peut citer également le cas de ribozymes issus de F-SELEX qui sont capables

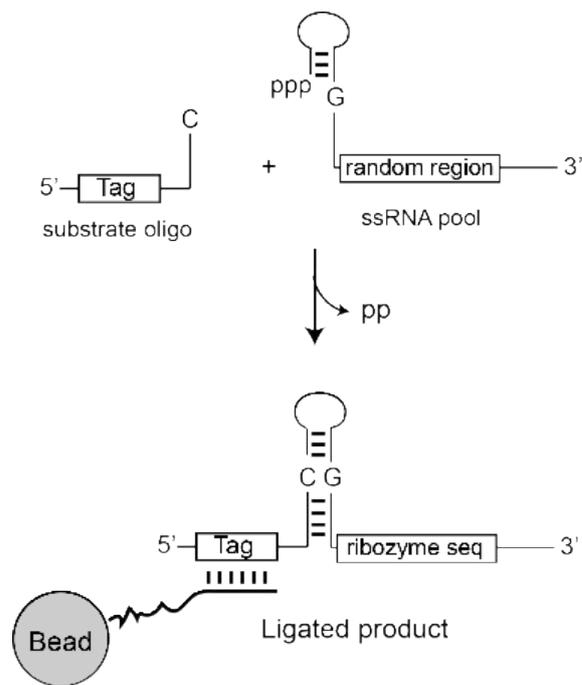


Figure 3 : principe de sélection fonctionnelle pour la découverte de ribozymes 'ligase' par SELEX (d'après Bartel et Szostak, Science, 1995).

de catalyser des réactions chimiques stéréo-sélectives (cyclo-addition Diels-Alder, par exemple)⁷ et qui présentent donc un potentiel intérêt industriel.

Intéressés depuis de nombreuses années par les protéines de remodelage de l'ARN, nous souhaitons développer une stratégie de F-SELEX pour étudier, et éventuellement exploiter « bio-technologiquement », ces protéines. Parmi les protéines de remodelage, les ARN hélicases constituent un groupe ubiquitaire d'enzymes capables de transformer l'énergie issue de l'hydrolyse d'ATP en travail physique conduisant généralement à la dissociation de régions en double hélice ou de complexes ARN-protéine. Nous pensons que l'activité de dissociation de brins des hélicases pouvait être exploitée dans une logique de sélection fonctionnelle (**Figure 4A**). Nous avons testé cette possibilité avec notre modèle préféré, l'ARN hélicase bactérienne Rho. Cette hélicase induit la terminaison de la transcription et la dissociation d'hétéro-duplexes ARN-ADN délétères appelés 'R-loops' qui se forment parfois à l'arrière des ARN polymérases et peuvent créer des conflits entre machineries de transcription et de réplication. Bien qu'essentielle chez de nombreuses espèces, l'activité de Rho reste assez mal comprise, son répertoire de cibles physiologiques n'étant notamment pas connu avec précision.

Nous avons développé une stratégie F-SELEX basée sur le criblage de pools de duplexes ARN-ADN immobilisés sur des billes magnétiques. Chaque duplexe contient une région ARN simple brin de séquence variable et qui peut servir de

point d'ancrage initial pour l'hélicase (**Figure 4A**). La configuration exacte des duplexes doit être adaptée à chaque hélicase, en fonction de ses propriétés de moteur moléculaire. Par exemple, dans le cas de Rho, qui possède une activité translocase 5'→3', la région ARN simple brin est placée en amont de la région duplexe (**Figure 4A**). Les séquences capables de mobiliser l'activité hélicase sont relarguées dans le surnageant et ainsi facilement sélectionnées (puis amplifiées par RT-PCR comme pour le SELEX classique). Nous avons utilisé cette nouvelle stratégie « H-SELEX » (Helicase-based Selection of Ligands by Exponential enrichment) pour rechercher les sites d'action de l'hélicase Rho le long du génome d'*Escherichia coli*. En nous inspirant de l'approche Genomic SELEX, nous avons préparé un pool de duplexes ARN-ADN dont chacun contient une séquence d'origine génomique dans sa région ARN simple brin. Une analyse par séquençage haut-débit et alignement des séquences montre que près de 98% des deux brins du génome sont « couverts » par le pool de départ. Après environ 10 cycles H-SELEX, la réactivité intrinsèque du pool de duplexes (vis à vis de l'hélicase Rho) atteint un maximum (**Figure 4B**) et sa composition est de nouveau déterminée par séquençage haut débit. En comparant les compositions des pools de départ et d'arrivée, il est possible de calculer un taux d'enrichissement pour chaque nucléotide du génome. Les profils

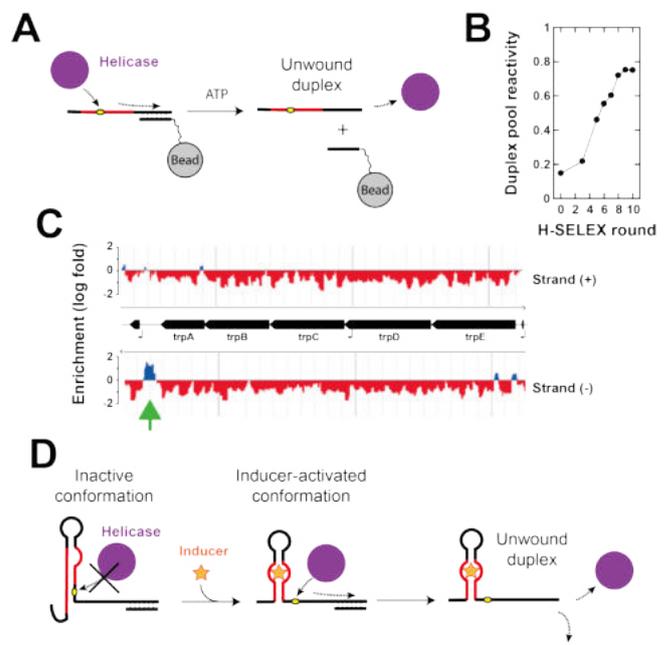


Figure 4 : (A) H-SELEX repose sur la sélection de brins ARN relargués dans le surnageant par une activité hélicase. (B) La réactivité du pool augmente au fur et à mesure des cycles H-SELEX. (C) Exemple de pic d'enrichissement (flèche verte) H-SELEX génomique identifiant avec précision un des rares sites d'action connus de l'hélicase Rho. (D) H-SELEX peut être adapté pour la création de riboswitches synthétiques (demande de brevet en cours).

génomiques résultants contiennent des pics d'enrichissement, généralement étalés sur une suite de nucléotides (~130 nucléotides en moyenne) qui identifient les sites d'action préférentiels de l'hélicase le long du génome (Figure 4C, flèche verte). Avec cette approche nous avons retrouvé ~80% des quelques quarante sites d'action de Rho qui étaient déjà connus relativement précisément et avons identifié plusieurs milliers de nouveaux sites qu'il sera maintenant possible d'étudier en détail (des études transcriptomiques suggéraient également un rôle global de Rho mais en raison de nombreux artefacts, comme l'action post-trans-

criptionnelle de nucléases essentielles, ne pouvaient identifier les sites d'action précisément).

Encouragés par ces premiers résultats, nous avons exploré d'autres modalités de mise en œuvre de l'approche H-SELEX et avons pu, par exemple, obtenir des substrats synthétiques conditionnels qui ne mobilisent l'activité hélicase qu'en présence d'un inducteur spécifique (Figure 4D). De fait, H-SELEX est la première approche capable de générer complètement de novo des riboswitches synthétiques répondant à un inducteur choisi (demande de brevet en cours).

3.

Une plateforme robotisée pour la mise en œuvre efficace et rapide de stratégies F-SELEX

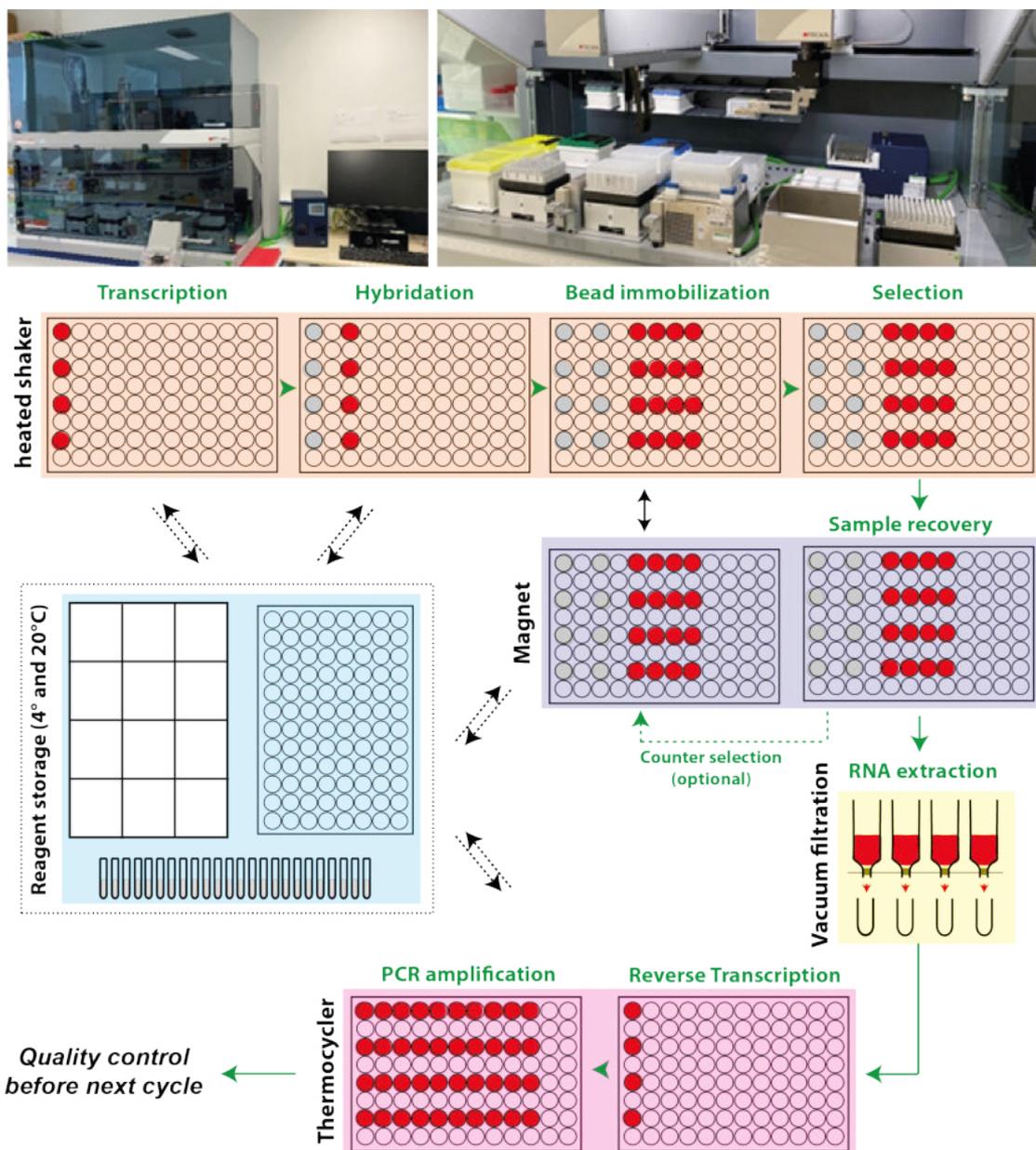
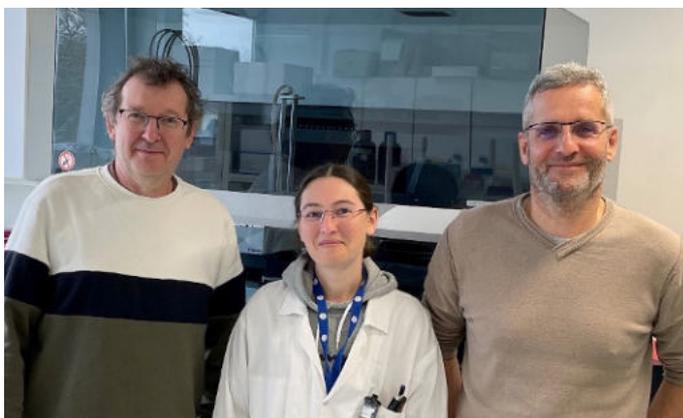


Figure 5 : Plateforme TECAN Evo150 customisée pour le SELEX fonctionnel (F-SELEX), installée au Centre de Biophysique Moléculaire sur le campus CNRS d'Orléans.

Malgré leur intérêt indéniable, les approches SELEX –en particulier les variantes F-SELEX- sont particulièrement laborieuses du fait des nombreuses étapes de biochimie et de biologie moléculaire qui composent chaque cycle (F-)SELEX. Le nombre élevé de cycles souvent nécessaires pour obtenir un enrichissement suffisant ainsi que le choix empirique des conditions de sélection au fur et à mesure des cycles contribuent également à alourdir les expériences (F-)SELEX. Une solution intéressante pour améliorer grandement le flux (F-)SELEX consiste à automatiser l'ensemble des étapes d'un cycle avec un robot de pipetage. La société bordelaise **Novaptech** fut précurseur en la matière et, grâce à sa plateforme automatisée de SELEX classique, propose un service de synthèse d'aptamères à façon.

Inspirés par cette réussite et avec l'aide financière de l'Agence Nationale de la Recherche et de notre laboratoire CNRS (CBM, UPR4301), nous avons développé une plateforme automatisée dédiée cette fois-ci au SELEX fonctionnel, et en particulier à notre procédé propriétaire H-SELEX. La plateforme repose sur un robot de pipetage TECAN Evo150 accessorisé pour le H-SELEX (Figure 5). Elle comprend trois incubateurs Peltier pour le stockage de réactifs, un incubateur Peltier agitant pour les réactions de sélection fonctionnelle (réaction hélicase, par exemple ; Figure 4A), un module de séparation magnétique en microplaques, un système de purification sous vide pour colonnes d'extraction en phase solide et un thermocycleur pour la PCR. Un bras robot permet le déplacement des plaques multi-puits de poste à poste tandis qu'un bras de pipetage 4-canaux permet le multiplexage et le traitement d'un à quatre échantillons différents en parallèle. Pilotée par un script propriétaire de plus de 3000 lignes de code, cette nouvelle plateforme robotisée de SELEX fonctionnel est à notre connaissance la première du genre, du moins en France. Bien qu'optimisée pour la variante H-SELEX, elle est modulaire et peut être assez facilement reconfigurée pour d'autres stratégies F-SELEX. N'hésitez donc pas à nous contacter si vous avez un projet de ce genre. Nous serons ravis d'étudier les possibilités de collaboration et de synergie que pourraient apporter notre plateforme automatisée F-SELEX, notre savoir-faire en matière de biochimie de l'ARN et d'évolution moléculaire dirigée, et notre expertise dans le traitement bio-informatique des données (F-)SELEX.



Contact : Marc BOUVILLAIN

Centre de Biophysique Moléculaire (CBM)-
UPR4301 CNRS - Rue Charles Sadron,
45071 Orléans cedex 02, FRANCE

Email : marc.boudvillain@cnsr-orleans.fr

Tél : +33 2 38 25 55 85

Références

1. Wang, F., Zuroski, T. & Watts, J.K. RNA therapeutics on the rise. *Nat Rev Drug Discov* **19**, 441-442 (2020).
2. Bartel, D.P. & Szostak, J.W. Isolation of new ribozymes from a large pool of random sequences [see comment]. *Science* **261**, 1411-8 (1993).
3. Stoltenburg, R., Reinemann, C. & Strehlitz, B. SELEX--a (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. *Biomol Eng* **24**, 381-403 (2007).
4. Singer, B.S., Shtatland, T., Brown, D. & Gold, L. Libraries for genomic SELEX. *Nucleic Acids Res* **25**, 781-6 (1997).
5. Lorenz, C. et al. Genomic SELEX for Hfq-binding RNAs identifies genomic aptamers predominantly in antisense transcripts. *Nucleic Acids Res* **38**, 3794-808 (2010).
6. Tjhung, K.F., Shokhirev, M.N., Horning, D.P. & Joyce, G.F. An RNA polymerase ribozyme that synthesizes its own ancestor. *Proc Natl Acad Sci U S A* **117**, 2906-2913 (2020).
7. Wilson, T.J. & Lilley, D.M.J. The potential versatility of RNA catalysis. *Wiley Interdiscip Rev RNA* **12**, e1651 (2021).

Bioeurope, une société de recherche et développement dans le domaine des biotechnologies et des ingrédients naturels pour la cosmétique, la nutrition santé et les peptones.

Bioeurope, entreprise située à Anet (28) constitue le pôle Recherche et Développement du Groupe Solabia (620 collaborateurs) pour le secteur des ingrédients actifs pour la cosmétique, la dermocosmétique, la nutrition santé et les peptones. Elle représente par ses différents domaines associés un centre d'expertise unique en Europe.

Créée en 1984 à Toulouse, Bioeurope, société de recherche dans les biotechnologies est devenue le centre de recherche et développement du groupe Solabia suite à son rachat en 1992. L'entreprise s'est installée en 1996 en Eure et Loir sur un des sites industriels du groupe Solabia représenté à Anet par la société UCIB.

La société constituée d'une vingtaine de chercheurs est articulée autour de différentes équipes du niveau technicien à ingénieur ou docteur dans leur spécialité.



Bioeurope et la recherche d'ingrédients actifs pour la cosmétique et le dermocosmétique

Dans le domaine cosmétique et dermocosmétique qui représente la grande majorité de ses thématiques de recherche, par application systématique des principes de la chimie verte, en lien avec l'équipe RSE du groupe Solabia, les chercheurs innovent en développant les actifs par 5 stratégies principales qui utilisent à la fois le champ des biotechnologies et le domaine du végétal (terrestre et marin) :

- Procédés biotechnologiques (fermentation) pour la production de composés spécifiques ou de systèmes enzymatiques.
- Procédés biotechnologiques dans le domaine des microalgues en coordination avec la société Algatech basée en Israël appartenant majoritairement au groupe Solabia.
- Procédés biotechnologiques (enzymologie) pour la chimie fine dans la découverte de molécules ciblées.
- Extractions végétales avec des techniques classiques ou plus innovantes comme la distillation moléculaire, le pressage (à l'aide d'une presse spécialement développée pour la protection de composés sensibles), l'eau subcritique ainsi que le CO₂ supercritique ou bien encore par utilisation des biotechnologies (systèmes enzymatiques).
- Extraction marine avec la société Algues et Mer appartenant au Groupe Solabia qui est basée sur l'île de Ouessant.

Tous ces différents procédés dans une stratégie d'efficacité biologique optimale peuvent être complémentaires et combinés pour aboutir aux ingrédients visés.

Les développements s'appuient sur 2 équipes support :

- un laboratoire de culture cellulaire pour un premier screening dans le cadre de l'objectivation des actifs développés. Cette équipe assure également la réalisation des tests biologiques (toxicité, vitro, ex-vivo, clinique) effectués chez des prestataires extérieurs.

- un laboratoire de formulation non seulement pour les applications des ingrédients actifs mais aussi pour l'obtention de présentations cosmétiques particulières comme par exemple des formules sous forme de perles polysaccharidiques.



Exemple de formulation cosmétique sous forme de perle

Le centre de recherche pour compléter ses expertises a noué divers partenariats avec des Universités nationales et internationales, des centres techniques et des sociétés innovantes internationalement reconnues.

Depuis plus de 20 ans la société Bioeurope est également adhérente du cluster - pôle de compétitivité - Cosmetic valley moteur particulièrement puissant de la filière cosmétique Française et en assure une vice-présidence.

Parmi les collaborations poussées au sein de la région Centre Val de Loire on peut mentionner différents projets avec les équipes de l'Université d'Orléans (ICOA - Prof E. Destandau) ou celles de l'université de Tours (Faculté de pharmacie - Prof. E. Munnier). Parmi les autres collaborations régionales on peut mentionner la participation au programme Cosmetosciences sur la valorisation de co-produits végétaux régionaux.

Dans ces axes de recherche, Bioeurope est précurseur dans un certain nombre de domaine.

On peut par exemple évoquer le microbiote qui est une des thématiques les plus porteuses actuellement dans le domaine de la santé (peau, intestin...). Dès le début des années 1990, Bioeurope sous l'impulsion d'un de ses fondateurs le Professeur Pierre Monsan de l'INSA de Toulouse, à l'aide de procédés biotechnologiques avait développé un gluco-oligosaccharide avec des effets prébiotiques qui montre et démontre de nombreux bienfaits à la fois en nutrition santé mais également en application cutanée. Parmi ceux-ci, on citera la production de molécules de type bêta-défensines qui sont des antibiotiques naturels. Cela a conduit au dépôt de différents brevets en nutrition santé et en application dermo-cosmétique.

Un autre exemple a été donné dans le cadre du biomimétisme. Déjà, il y a près de 35 ans l'équipe de Bioeurope avait constaté que certains microorganismes, singulièrement pour se protéger développaient une gangue muqueuse de type polysaccharidique. Par transposition, ceci pouvait donc aussi avoir un intérêt pour des applications cutanées. C'est ainsi qu'est né le fucogel (nom INCI : Biosaccharide gum-1) avec également comme énorme

atout d'apporter de la sensorialité comme la douceur aux formules qui en contiennent. Depuis cela, la gamme a été complétée par d'autres polysaccharides d'origine fermentaire pour lutter notamment contre les effets délétères de la pollution sur la peau.

Dans le cadre du biomimétisme, des analogues de céramides qui sont des molécules clés dans le maintien de l'intégrité cutanée ont été développés par biotechnologie sans utilisation d'aucun solvant en partant d'huiles végétales.

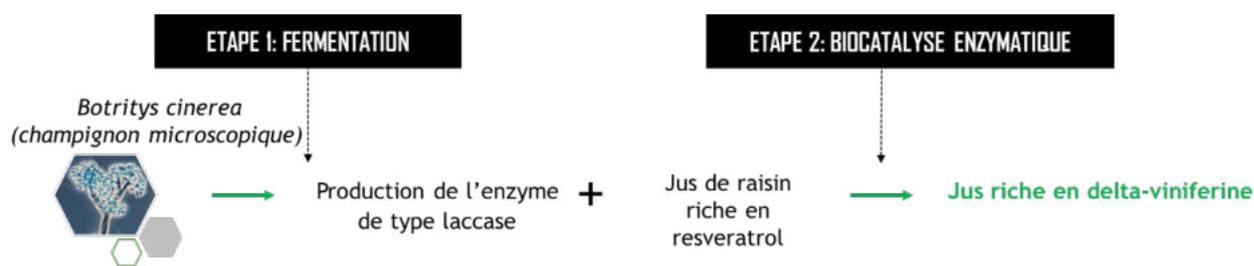
Plus récemment encore, par observation des systèmes de protection des plantes contre divers agresseurs (microorganismes pathogènes, UV,...) et en mimant exactement un procédé de défense naturel, des molécules ont été produites pour des applications dans la protection cutanée.

Ainsi, par l'intermédiaire d'un système enzymatique de type laccase provenant d'un champignon microscopique bien connu dans les vignobles - le *Botrytis cinerea* - les chercheurs de Bioeurope ont reproduit des molécules de défense développées par la nature pour se protéger contre diverses agressions. La transposition de ces composés au niveau cutané conduit à d'excellents résultats dans la protection de la peau.

Dans le domaine du végétal, l'entreprise innove également par ses procédés d'extraction. Ainsi, les chercheurs ont fait récemment développer un pilote puis un outil industriel qui permet d'avoir accès sur un même appareil à de l'extraction au CO₂ supercritique combiné à l'eau subcritique. Cela permet ainsi de valoriser des co-produits du monde végétal dans des filières traçées sans avoir besoin de traitement de destruction ultérieure car la matière première n'est jamais en contact avec un solvant (à part de l'eau ou/et du CO₂). Ici aussi les biotechnologies (enzymes) peuvent être combinées à ces travaux pour obtenir des molécules ou familles de molécules plus ciblées ou apporter un meilleur rendement.

Issus de ses technologies le centre de recherche et développement développe spécifiquement de nombreux produits pour des industriels nationaux ou internationaux.

Procédé **NATUREL** (2 étapes biotechnologiques)



Exemple d'une molécule (delta-viniférine) produite par le système enzymatique de type laccase

Bioeurope et la recherche d'ingrédients actifs pour la nutrition santé

Les équipes de recherche de Bioeurope travaillent également au développement d'ingrédients santé. Dans la plupart des projets en lien avec les biotechnologies les axes sont issus du domaine des minéraux, des macroalgues ou des microalgues. On peut ici aussi par exemple mentionner les travaux effectués dans le domaine du microbiote intestinal avec récemment une importante étude cli-

nique menée en partenariat avec un hôpital italien. Celle-ci a débouché sur de prometteurs résultats sur les effets d'un gluco oligosaccharide obtenu par biotechnologie qui booste au niveau intestinal des molécules de type peptides anti-microbiens appelés communément les antibiotiques naturels de l'organisme.

Bioeurope et la recherche de nouvelles peptones végétales

Les chercheurs de Bioeurope travaillent également de manière très étroite avec certaines usines du groupe Solabia dans le développement de nouvelles peptones végétales. Ce sont

des hydrolysats protéiniques obtenus à l'aide d'enzymes qui sont employés par exemple dans le domaine du diagnostique microbiologique ou bien encore utilisés en fermentation par exemple pour la production de vaccins. Suite à tous ces travaux et résultats, au cours des 18 dernières années, au nom des diverses sociétés du groupe Solabia, Bioeurope a ainsi déposé 38 brevets nationaux ou internationaux.



Contact : Florent YVERGNAUX

Directeur de Bioeurope et directeur R. & D. Cosmétique, nutrition santé, peptone du Groupe Solabia
Rte d'Oulins, 28 260 Anet, Centre-Val de Loire, France

florent.yergnaux@solabia.fr

<https://www.solabia.com/fr/tecnologia/solabia>

Liste des startups et PME (R&D Sciences de la Vie) de la Région Centre-Val de Loire (Septembre 2022)

• ABC TRANSFERT Tours (créée en 2019)

Dirigée par Thierry Girard - Président – Directeur commercial et Marketing

30 Rue André Theuriet, 37000 Tours, France

+33 7 89 89 11 55

« Conception et développement de transfert aseptique »

<https://abctransfer.fr>

• ACM Pharma (créée en 1990)

Dirigée par Eric Petat - Groupe Teranga

30-36 av du 21 août 1944, 45270 Bellegarde

Tél : 02 38 90 41 01

« Laboratoire de microbiologie des industries de santé »

www.acmpharma.com

• AdEchoTech (créée en 2008)

Dirigée par Eric Lefebvre

Siège : Le Vivier, 41310 Huisseau en Beauce

Tél : 0820 20 50 66

« Télé-échographie robotisée »

www.adechotech.fr

• Agro-Bio (créée en 1975)

Dirigée par Michel Canton - Groupe Stago

2 allée de la Chavannerie, 45240 La Ferté St-Aubin

Tél : 02 38 64 83 50

« Immunotechnologie et anticorps »

www.agro-bio.fr

• Bioeurope

Président : Jean-Baptiste Dellon

aline.lorente@solabia.fr

Route d'Oulins, 28 260 Anet

Tél : 02 37 62 82 00

« Recherche et développement d'ingrédients actifs pour la cosmétique par biotechnologie (fermentation, enzymologie), extraction végétale, chimie fine. Développement de peptones (substrat azoté), d'actifs cosmétiques (extraction végétale, chimie, génie enzymatique, fermentation) ».

<http://www.solabia.fr/>

• Artimmune (créée en 2009)

Dirigée par Fabrice Trovero

Siège : 13 avenue Buffon, 45100 Orléans

Tél : 02 38 69 48 63

« CRO : Expertise et services de recherche pour des projets pré-cliniques en immunologique. Domaines : pathologie respiratoire, allergie et inflammation »

www.artimmune.com

• Axyntis Orgapharm

Dirigée par David Simmonet

Filiale d'un groupe situé en France

25 rue du moulin de la canne 45300 Pithiviers

Chimie fine en France 460 salariés

Tél 02 38 06 20 00

<https://www.axyntis.com/fr>

- **Biocreation Cosmetic** (créée en 2008)

Dirigée par Carole Geraci
Siège : Chemin départemental 5, 28480 St Denis d'Hauthou
Tél : 02 37 53 32 01
« Mises au point de formulations cosmétiques »
www.biocreation-cosmetic.fr

- **BRT** (créée en 2007)

Gérant : Franck Bruno
13 rue des livraindières, 28 100 Dreux
fbruno@club-internet.fr
Tél : 02 37 63 55 15
« Entreprise dont l'objectif est de faire produire à grande échelle par la luzerne des protéines spécifiques, dites «de choc thermique» (qui aident le système immunitaire à se défendre et protègent les autres protéines soumises à un stress), les extraire, les purifier et les commercialiser en vue d'une utilisation dans la production de médicaments. »

- **Cebiphar** (créée en 2008)

Dirigée par Eric Petat - Groupe Teranga
1 rue de la Bodinière, 37230 Fondettes
Tél : 02 47 42 48 48
« CRO : Développement et contrôle de produits pharmaceutiques humains et vétérinaires »
www.cebiphar.com

- **Chimex** (créée en 1996)

Dirigée par Didier Choisi - sous-traitant interne de L'Oréal
101 avenue Gustave Eiffel, Notre Dame d'Oé, 37097 Tours
Tél. : 02 47 62 83 83
« Conçoit des procédés industriels innovants à forte valeur sociale et environnementale en chimie fine, biotechnologies et intensification des procédés »
www.madeinchimex.com

- **CHIESI SAS** (créée en 1999)

Site industriel dirigé par Franck Vilijni Filiale PROMEDICA,
ZI des gailletoux, 13 rue Mickael Faraday,
41 260 La Chaussée-Saint Victor
f.vilijn@chiesi.com
blois@chiesifrance.com
Tél. : 02 54 74 33 05
« Fabrication et exploitation commerciale de produits pharmaceutiques et cosmétiques. Laboratoire spécialisé dans les produits de traitement des maladies respiratoires : spécialisée dans le packaging des formes sèches, liquides et aérosols et produit plus de sept millions d'unités par an dont environ 70% pour l'international »
<https://www.chiesi.fr/>

- **3 C FRANCE**

Directeur général : Serge Kronenberg
Zone industrielle, BP9, 18380 La Chapelle d'Angillon
commercial@3cfrance.com
« Biens d'équipement pour industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires ».
Tél : 02 48 81 66 66
<http://www.3c-france.com>

- **Delpharm Tours**

Directeur industriel : Pierre Panty
Rue Paul Langevin, La Baraudière, 37 170 Cambray-Les-Tours
contact.tours@delpharm.com
« Laboratoire pharmaceutique de sous-traitance, façonnier spécialisé dans les formes sèches (comprimés, gélules et poudres, les buvables et les injectables), conditionnement et contrôle à façon de médicaments ».
Tél : 02 47 48 43 00
<http://www.delpharm.com>

- **Dianael**

Dirigée par Philippe Bernard
31 bld Foch La Ferté Saint Aubin
Tél 08 92 97 61 73

- **ERBC**

Pharmacologie et Toxicologie
<https://www.erbc-group.com>

- **Euraxi Pharma** (créée en 1986)

Dirigée par Olivier Unger
10 Rue Gutenberg, 37300 Joué-lès-Tours
Tél : 02 47 74 30 30
« CRO : recherche clinique »
www.euraxi.fr

- **Eydo Pharma** (créée en 2011)

Présidente : Elisabeth Rossines
Village Entreprise B, allée des grandes bruyères,
41200 Romorantin
aromatechnologies@wanadoo.fr
Tél : 02 54 76 39 61
« Fabrication d'huiles essentielles à base de produits naturels »
<https://www.eydo.eu/fr/>

- **Glycodiag** (créée en 2005)

Dirigée par Ludovic Landemarre
Université d'Orléans, Rue de Chartres,
Bât. Physique Chimie, Porte 102, 1^{er} étage,
45067 Orléans Cedex 2
Tél : 02 38 41 72 85
« Spécialiste de l'analyse des sucres complexes »
www.glycodiag.com

- **GreenPharma** (créée en 2000)

Dirigée par Philippe Bernard
Siège : 3, allée du titane, 45100 Orléans
Tél : 02 38 25 99 80
« Molécules actives et ingrédients issus de substances naturelles pour les domaines cosmétiques, pharmaceutiques, agrochimiques, environnementaux, et nutritionnels »
www.greenpharma.com

- **Igyxos Biotherapeutics** (créée en 2017 à partir de Repropharm)

Pierre-Henry Longerey, Chief Executive Officer
Centre INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly
Tel : 02 47 42 79 35
« Produits pharmaceutiques innovants pour la reproduction Humaine »
www.igyxos.com

- **Kaerus Bioscience France** (créée en 2017)

Président : Alex Vagner
alex.vagner@kaerusbio.com
77 boulevard Alexandre Martin, 45 000 Orléans
Tél : 06 03 53 50 50
« Activité de recherche pour la lutte contre le syndrome de l'X fragile, maladie rare causant un fort retard mental »

- **Key-Obs** (créée en 2000)

Dirigée par Jean-Charles Bizot et Fabrice Trovero
Siège : 3 allée du Titane, 45100 Orléans
Tél : 02 38 64 60 68
« Études précliniques dans le système nerveux central. Modèles in vivo, souris transgéniques »
www.key-obs.com

- **Kinnov Therapeutics**

Dirigée et crée en 2015 par Philippe Bernard
3 allée du titane, 45100 Orléans
www.kinnov-therapeutics.com

- **Kymeris Santé** (créée en 2017)
Dirigée par Richard Mc Crae
8 rue Honoré de Balzac, 37000 Tours
« Recherche et développement dans les vaccins oncologiques »
<http://mabimprove.univ-tours.fr/fr/partenaire/kymeris-sante/>
- **Laboratoires ERIGER** (créée en 2019)
dirigé par Eric Buchy, DG, et Gérald Chomat, président
33 rue Augustin Fresnel, 37170 Chambray les Tours
Tél : +33 247 86 44 75
Vectorisation de molécules actives pour créer et développer la technologie PhytoVec®
<https://laboratoires-eriger.com/>
- **Laboratoires NAO** (créée en 2010)
dirigé par Celie Troussard, présidente
16 rue Blaise Pascal, 45800 St Jean de Braye
Tél : 02 38 86 37 85
« Laboratoire cosmétique et capillaire »
www.laboratoires-nao.fr/
- **Laboratoires TEANE** (créée en 2008)
dirigé par Agnès Ducrocq
111 Bld Duhamel du Monceau, 45160 Olivet
Tél : 02 38 25 33 75
« Soins cosmétiques dédiés à la grossesse et la maternité »
www.teane.com
- **LoValTech** (créée en 2022)
Dirigée par Patrick Barillot
Mame, 49 Bd Preuilly, 37000 Tours
LovalTech a été créée afin de mettre en place une plateforme technologique pour le développement de vaccins de nouvelle génération capables de protéger la population mondiale contre les maladies infectieuses, non ou mal couvertes par les vaccins actuels.
patrick.barillot@lovaltechnology.com
<https://lovaltechnology.com/>
- **MabSilico** (créée en 2017)
Dirigée par Vincent Puard
Le HQ, 1 Imp. du Palais, 37000 Tours
Société française de deeptech concevant et mettant en œuvre des solutions informatiques pour la découverte et le développement d'anticorps thérapeutiques et de biodrugs.
Vincent.puard@mabsilico.com
www.mabsilico.com
- **Martin Dow healthcare** (créée en 1995, antenne installée à Gien en 2015)
Directeur commercial : Philippe Alphonse
Fabrication de compléments alimentaires en sous-traitance à Gien (45)
<https://martindow.fr/pharmaceuticals/>
- **Melkin Pharmaceuticals**
Dirigée par Fabrice Trovero
13 av Buffon 45100Orléans, SAS créée en 2015
Tél 08 92 97 63 61
<http://www.melkin-pharma.com/>
- **Mc SAF** (créée en 2015)
Dirigée par Didier Massuart
Siège : 1 rue Claude Thion, 37000 Tours
Tél : 02 47 25 01 54
« Chimie bio-organique et chimie des bio-conjugués - synthèse à façon, optimisation chimique, ciblage de biomolécules d'intérêt »
www.mcsaf.fr
- **Novaxia** (créée en 1996)
Dirigée par Brigitte Legrain
Siège : 6 rue des Champs Godin, 41220 St Laurent Nouan
Tél : 02 54 87 24 07
« Histologie et immunologie au service de la R&D de l'industrie pharmaceutique et cosmétique »
www.labo-novaxia.com
- **NucleoSyn** (créée en 2006)
Dirigée par Jean-Christophe Truffert - rachetée par Biosolve
Siège : 16 rue Léonard de Vinci, 45100 Orléans.
Tél : 02 38 25 33 70
« Analyse de gènes, ingrédients entrant dans la composition de médicaments et de Kits diagnostic »
shop.biosolve-chemicals.eu
- **OXYSTRESS technologies** (créée en 2019)
Présidée par Samil Meziane
Siège : Allée Georges Charpak, 18100 Vierzon.
meziane@ie-antioxydants.com
« Fabrication d'équipements d'irradiation médicale, d'équipements électromédicaux et électrothérapeutiques »
- **PSASS** (créée en 2016)
Dirigée par Frédéric ROS
1^{ère} société de service innovant dans le domaine des pathologies des troubles du sommeil.
Tél : 06 49 23 38 66
<https://psass.fr/>
- **RepropharmVet** (créée en 2017) à partir de Repropharm
Dirigée par Marie-Christine Maurel
Siège : Centre INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly
Tél : 02 47 42 79 35
« Biotechnologies de la reproduction des animaux d'élevages »
www.repropharmvet.com
- **Ragt 2N** (créée en 2000)
22B Le Bourg, 28200 Villampuy et route d'Epincy, 28150 Louville-La-Chenard.
« Stations de recherche en semences »
www.ragt-semences.com
- **SkyMab Biotherapeutics** (créée en 2019)
Présidente : Andrée Nguyen
aiphi.nguyen@yahoo.fr
8 rue Honoré de Balzac, 37 000 Tours
Tél : 06 58 90 26 78
« Recherche, conception, développement, production, et commercialisation d'anticorps à des fins thérapeutiques ou diagnostics de pathologies sévères non desservies par le marché »
- **Synerlab Développement** (repris en 2012)
Dirigée par Pierre Blazet Patrick Thirion et Emmanuelle Brun
Siège : 1 rue Charles de Coulomb, 45100 Orléans
Tél : 02 38 25 02 25
« Développement pharmaceutique des formes orales solides, des premières étapes de formulation jusqu'à la fabrication à l'échelle pilote incluant la production de lots pour essais cliniques, allée du Titane Orléans »
www.synerlab.com/synerdev/accueil
- **Transderma systems** (créée en 2004)
Dirigée par Alain Boucaud
23 rue Jacques Monod 37200 Tours
Tél : 02 47 36 62 55 et 08 92 97 63 20
« Évaluation et validation de produits cosmétiques »
www.transderma.fr
- **UCIB**
Dirigée par Geoffroy Madelin - Groupe SOLABIA
Route d'Oulins, 28260 Anet
Tel : 02 37 62 82 00
« Chimie fine, synthèse chimique et enzymatique, hydrolyse enzymatique, bioconversion »
www.solabia.fr

C.B., D.M. & B.C.

Microbiote de la peau et biotechnologie

La révolution technologique de ces dernières années a permis d'inventorier la flore cutanée et ses modifications lors d'épisodes à la limite du maladif (odeur forte de la sueur) ou carrément maladif (acné et dermatose). A l'instar de la flore digestive, les biotechnologistes se sont emparés de ce domaine en projetant de manipuler le microbiome cutané.

Flore cutanée

La peau est caractérisée par une grande diversité de sites anatomiques sans compter qu'elle tapisse de nombreuses glandes et follicules en contact permanent avec le monde extérieur. Jusqu'à récemment on distinguait 3 types de bactéries chez l'adulte ; dans les glandes sébacées, le sébum est envahi par le groupe *Propionibacterium*, dont *Cutibacterium acnes* présent dans les boutons d'acné et comédons. Tandis que les sites moites sont peuplés de *Corynebacterium*, les sites secs sont colonisés par des *Staphylocoques* dont *S.epidermitis* (1). La peau abrite également des espèces fongiques, dont le genre *Malassezia*, et curieusement offre la diversité fongique la plus importante sur les pieds (2). Contrairement à l'idée reçue d'une imperméabilité de la basale épidermique (3) même le derme cutané est colonisé.

Plus récemment, en intégrant les cultures et



la métagénomique on a répertorié (4) 622 espèces de microbes, dont 174 espèces de toutes nouvelles bactéries, 12 espèces fongiques et 20 types de bactériophages. La composition exacte du microbiome cutané varie selon les parties du corps. La joue par exemple présente une relative abondance d'un type bactérien nouvellement identifié, *Candidatus pellibacterium*.

Évolution avec l'âge

Notre microbiome cutané change à un rythme propre dû à sa localisation et subit les influences de facteurs internes (alimentation, système immunitaire et maladies) et externes (pollution et expositions microbiennes). Malgré ces variations, il conserve globalement une composition qui indique précisément notre âge, mieux que les microbiomes oraux ou intestinaux (5).

Ainsi *Cutibacterium* réapparaît dans les glandes sébacées lors de la puberté. Cette bactérie utilise en effet les lipides du sébum (d'où l'ancien nom de *C. acnes*) pour synthétiser des acides gras à courte chaîne qui repoussent d'autres microbes au même titre que *Staphylococcus epidermidis* qui secrète des substances antimicrobiennes.

Interaction peau-microbiome

L'augmentation de *Cutibacterium* à la puberté avait suggéré que cette bactérie pouvait être responsable de l'acné chez les adolescents d'autant plus que les antibiotiques ou les désinfectants représentent des traitements efficaces. Mais on trouve également cette bactérie chez les sujets sans acné, si bien qu'on a émis l'hypothèse que l'acné serait le résultat d'interactions entre une souche particulière de *C. acnes* et la peau du sujet. Dans cette optique, des résultats récents (6) montrent que les fibroblastes qui entourent

les follicules acnéiques peuvent se transformer en cellule adipeuse. L'adipogenèse déclenche une expression accrue du gène CAMP (cathelicidin antimicrobial protein) qui code pour un peptide antimicrobien, - la cathelicidine - qui freine l'infection bactérienne. Ce serait un mode d'action supplémentaire des rétinoïdes utilisés en traitement de l'acné sévère. Cette adipogenèse réactive a été également observée en réponse à *S. aureus* qui envahi la peau ou lors d'une lésion intestinale.

Bien que les poussées de dermatite atopique soient associées à des recrudescences de *S. Aureus* (avec le problème bien connu de résistance à la méthicilline), on ne sait toujours pas si c'est

la peau enflammée qui lui fournit des nutriments ou si c'est l'extension de *S. aureus* qui occasionne l'inflammation.

Modifier l'équilibre du microbiote cutané

La variation spontanée de la flore cutanée autorise l'idée de manipuler cette flore soit en éliminant les espèces pathogènes, soit en y incorporant des espèces bénéfiques ou en modifiant avantageusement les espèces résidentes. Les biotechnologistes (7) éprouvent différentes approches soit en identifiant les souches de *S. epidermidis* potentiellement bénéfiques pour la peau ou de *C. acnes* pour lutter contre la dermatite atopique. Une autre approche développe une immunothérapie à base de vaccin contre *C. acnes*.

En cherchant à laisser les bactéries *in situ*, l'approche génomique cible les gènes bactériens spécifiquement associés aux maladies de la peau. Ainsi on utilise CRISPR pour désactiver spécifiquement un gène, tel celui de la résistance aux antibiotiques chez *S. aureus*.

Des essais cliniques font état d'implantation d'une flore saine permettant de corriger une odeur corporelle. Cependant le traitement nécessiterait 3 ans (8) et demande des compléments cliniques.

Un autre essai sur d'acné utilise un mélange de souches de *C. acnes* d'une peau saine (7). Si on a pu observer que la composition du microbiome de la peau du visage se déplaçait vers les espèces transplantées l'absence de diminution significative des lésions acnéiques requière des recherches supplémentaires.

Une approche prébiotique s'entendrait de l'application de nutriments spécifiques de la flore bactérienne saine au détriment des bactéries pathogènes au moment ou peu avant une poussée de dermatite atopique ou d'eczéma ce qui nécessite l'analyse du microbiome cutané.

Toutes ces nouvelles approches pour guérir les affections cutanées nécessitent donc une bien meilleure compréhension des nombreuses espèces microbiennes qui résident sur la peau. Bien des inconnues demeurent, et notamment pour savoir si l'affection commence par une altération de la peau ou si c'est la bactérie qui occasionne cette altération. Cependant, d'ores et déjà ces approches jalonnent la voie de nouvelles thérapies biotechnologiques.

H.S.

Pour en savoir plus :

1. Gallo, R. L. & Nakatsuji, T. Microbial symbiosis with the innate immune defense system of the skin. *J. Invest. Dermatol.* 131, 1974–1980 (2011).
2. Findley K; et al. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature*, 498,367–370 (2013).
3. Nakatsuji T. et al. The microbiome extends to sub_epidermal compartments of normal skin. *Nat.Commun.* 4:1431, 1-8 (2013).
4. Kashaf S. Integrating cultivation and metagenomics for a multi-kingdom view of skin microbiome diversity and functions *Nature Microbiology*, 7,169–179 (2022).
5. Huang S. et al. Human skin, oral and gut microbiomes predict chronology, *mSystems*, 5, 1, (2020).
6. O'Neill A. et al. Antimicrobial production by perifollicular dermal preadipocytes is essential to the pathophysiology of acne. *Science Translational Medicine* 14,632 (2022).
7. Nogrady B. Biotech Tries Manipulating the Skin Microbiome. *The Scientist, TS-Digest*, 2, (2022).
8. Karoglan A. et al. Safety and Efficacy of Topically Applied Selected Cutibacterium acnes Strains over Five Weeks in Patients with Acne Vulgaris: An Open-label, Pilot Study. *Acta Derm Venereol* 99: 1253–1257, (2019).

Le 34^e colloque de Biotechnocentre a bénéficié de soutiens financiers d'origines variées. Nous sommes extrêmement reconnaissants à tous ceux qui ont rendu possible cette manifestation.



Secteur public

- ❑ Conseil Régional de la Région Centre-Val de Loire
- ❑ INRAE Centre Val de Loire
- ❑ CNRS Délégation Centre Limousin Poitou-Charentes
- ❑ Collegium Sciences et Technologies (CoST)
- ❑ École Doctorale 549 SSBCV Universités Orléans-Tours



ECOLE DOCTORALE SSBCV



Secteur privé

- ❑ Agro-Bio, La Ferté St Aubin (45)
- ❑ Eurogentec, Seraing, Belgique
 - ❑ GLYcoDiag, Chevilly (45)
 - ❑ GreenPharma, Orléans (45)
 - ❑ NeoVirTech, Toulouse (31)
 - ❑ Servier, Orléans (45)



Pour toute information, contacter

Bertrand CASTAING, Responsable éditorial ou **Nathalie RICHE**, Secrétariat

Adresse : Faculté de Pharmacie, Université de Tours, 31 avenue Monge, 37200 Tours

Email : bertrand.castaing@cnrs-orleans.fr ou biotechnocentre@sfr.fr