

- **Éditorial de Bertrand Castaing, Président de Biotechnocentre**
- **Programme du 33<sup>e</sup> colloque** (7-8 octobre, Center Parcs - Les hauts de Bruyères, 41)
- **COVID-19**
  - Projets Covid-19 soutenus par la région Centre-Val de Loire
- **Actualité Biotechnocentre**
  - 6<sup>e</sup> journée thématique de Biotechnocentre : « Cellules souches et organoïdes : réalités et perspectives » 25 juin 2021
- **Entretien avec un chercheur « Le Studium »**
- **Laboratoires en région Centre-Val de Loire**
  - UMR 7355 CNRS-Université d'Orléans, Immunologie et Neurogénétique Expérimentales et Moléculaires (INEM)
  - EA 4245 Université de Tours, « Transplantation, Immunologie et Inflammation »
- **Nouveaux équipements en Région Centre-Val de Loire**
  - Un robot extracteur epMotion® à l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI)
  - Plateforme d'écologie physique de l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI)
- **Spécificités régionales**
  - Un partenaire industriel de l'Institut de Chimie Organique et Analytique d'Orléans : la Pharmacie centrale des armées
  - Les outils et les acteurs du développement économique en région Centre-Val de Loire : présentation du pôle de compétitivité France Water et du pôle Dream
- **Brèves biotechnologiques**

## SOMMAIRE

### Ont collaboré à la rédaction de cette lettre :

Luigi Agrofoglio ; Christian Andres ; Catherine Beaumont ; Hélène Bénédicti ; Marc Bertrand ; Annie Bézier ; Stéphane Boyer ; Denys Brand ; Franck Brignolas ; Norbert Bromet ; François Caire-Maurisier ; Jérôme Casas ; Bertrand Castaing ; Jean-Claude Chénieux ; Jean-Louis Dacheux ; Catherine Dagorn-Scaviner ; Franck Dedeine ; Agnès Delmas ; Frédéric Denis ; Hugues de Rocquigny ; Simon Dupont ; Sébastien Eymieux ; Hervé Gaboriau ; Francis Gauthier ; David Giron ; Nathalie Guivarc'h ; Élisabeth Herniou ; Charline Herrscher ; Christophe Hourieux ; Élisabeth Huguet ; Carlos Lopez-Vaamonde ; Thaïs Masson ; Aurélien Montagu ; Thierry Moreau ; Émilie Munnier ; Gilles Pilate ; Valérie Quesniaux ; Sébastien Roger ; Henri Salmon ; Lucas Sire ; Thomas Steinmann ; Catherine Taragnat ; Dieudonnée Togbé ; Marie-Claude Viaud-Massuard ; Adrian Wolstenholme

Président : Bertrand Castaing - Responsable éditorial : Bertrand Castaing - Secrétariat : Nathalie Riche

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

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

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

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

Mais cela n'était pas compatible avec le milieu de la Recherche qui ne peut être que mouvant et dynamique pour exister et c'est encore plus vrai pour une association comme *Biotechnocentre*. C'est à partir de ce moment-là que les « fées » *Zoom* et *Teams*, assistées du « sorcier » *Le Studium*, ont fait leur apparition sur nos consoles et exercé leurs « sortilèges » en nous proposant des alternatives pour maintenir tant bien que mal un lien « en distanciel » entre nous. A ce jour, je peux vous avouer que les systèmes de visioconférences, aussi imparfait soient-ils, ont sauvé en partie ma présidence à la tête de *Biotechnocentre*. Nous nous sommes appropriés ces outils en organisant une journée thématique exceptionnelle sur les coronavirus au mois d'avril 2021 (<https://www.lestudium-ias.com/event/ce-que-vous-avez-toujours-voulu-savoir-coronavirus>). Avec près de 180 inscrits et 110 connectés en moyenne tout au long de la journée, cette conférence a été une vraie réussite avec une table ronde ayant permis de nombreux échanges en particulier sur la pandémie de la Covid-19 et sur la question de la vaccination. A ce propos, je vous renvoie au bulletin d'information biennuel de *Biotechnocentre* (issues n°72, 73, 74 et ce dernier numéro) dans lequel nous avons essayé de vous informer sur l'état de cette recherche en Région et même au-delà. Je voudrais ici remercier Nathalie Winter (INRAE, ISP, Nouzilly), Sylvie Chalon (Université de Tours), Denys Brand (Faculté de Médecine de Tours) et Pascal Bonnet (Université d'Orléans) des RTRs *FéRi* et *MotivHealth* qui nous ont aidés à organiser cette journée sans oublier Astrid Vabret (CHU de Caen) et Daniel Marc (INRAE, ISP, Nouzilly) qui ont animé à la perfection la table ronde et Maurine Villiers et Aurélien Montagu de *Le Studium* qui ont assuré la logistique et la captation des conférences.

Forts de cette première réussite et toujours en collaboration avec nos collègues de *Le Studium*, nous avons organisé fin juin 2021 et toujours en distanciel une journée thématique « Cellules souches et organoïdes : réalités et perspectives » ([https://www.canal-u.tv/producteurs/le\\_studium/biotechnocentre/6e\\_journee\\_thematique\\_25\\_juin\\_2021\\_cellules\\_souches\\_et\\_organoides\\_realites\\_et\\_perspectives](https://www.canal-u.tv/producteurs/le_studium/biotechnocentre/6e_journee_thematique_25_juin_2021_cellules_souches_et_organoides_realites_et_perspectives)). Avec 240 inscrits et jusqu'à 148 connectés en même temps, cette journée scientifique a eu un retentissement national (c'est un avantage des webinaires) avec des retombées inattendues. Je vous invite à lire l'article de Catherine Taragnat à ce propos dans ce bulletin.

Malgré ces francs succès de l'année 2021 qui atténuent un peu l'année noire que nous venons de passer, un sentiment d'inachevé persistait au sein de l'association suite à l'annu-

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

Aussi, c'est un réel plaisir pour moi d'annoncer le 33<sup>e</sup> colloque de *Biotechnocentre* « en présentiel ». Suite aux fermetures successives du domaine de Seillac puis du domaine de Chalès (Nouan-le-Fuzelier), nous sommes accueillis cette année à Center Parcs Domaine des Hauts de Bruyères en Sologne (Chaumont-sur-Tharonne, Loire-et-Cher). Je voudrais ici remercier les conférenciers qui avaient répondu positivement à notre invitation en 2020 d'avoir tous répondu présent encore une fois en 2021 et aux doctorants d'avoir répondu massivement à l'appel à communication lancé par l'ED 549 à la mi-Juin. Je n'ai pas de doute que vous tous assurerez le succès du 33<sup>e</sup> colloque de *Biotechnocentre* et démontrerez clairement le dynamisme de la Recherche, de l'Enseignement Supérieur et de l'Innovation en région Centre-Val de Loire dans les domaines des Sciences de la Vie, de la Santé et du Bien Être. En plus du programme riche de ce colloque, cette lettre vous permettra de découvrir les projets Covid-19 soutenus par la Région, certains laboratoires de la Région, les équipements nouveaux mis à notre service permettant des engagements dans des programmes de recherches pointus et bien d'autres choses pouvant vous intéresser.

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

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

Bien à vous

**Bertrand Castaing**  
Président de *Biotechnocentre*



Les Biosciences en région Centre-Val de Loire  
**Programme du 33<sup>e</sup> Colloque de Biotechnocentre**  
 Center Parcs Sologne – 7 et 8 octobre 2021

**JEUDI 7 octobre 2021**

**8h 30**  
 9h 00 - 9h 30

**Accueil des participants**

**OUVERTURE DU COLLOQUE- Session académique**

- Anne BESNIER, *Conseillère régionale Vice-Présidente déléguée à l'Enseignement Supérieur, à la Recherche et l'innovation pour la biologie et la santé, les sciences et la technologie, Univ. de Tours*
- Catherine BEAUMONT, *Vice-Présidente « recherche » pour la biologie et la santé, les sciences et la technologie, Univ. de Tours*
- Pascal BONNET, *Vice-Président du conseil académique en charge de la commission de la recherche, Univ. d'Orléans*
- Marc GUERIN, *Président du Centre INRAE Val de Loire*
- Bertrand CASTAING, *Président de Biotechnocentre*

**Modération : Bertrand CASTAING**

Terence STRICK, *Institut de Biologie de l'École Normale Supérieure (IBENS), CNRS UMR8197- Inserm U1024, ENS Paris*  
 La Pharmacologie à l'ère des Nanotechnologies

**Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modération : Franck SUZENET & Sophie TESSERAUD**

Filière A : Jennifer PERRIN, *BBV, EA2106, université de Tours*

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

Filière B : Adeline CEZARD, *CEPR, UMR1100, INSERM, Tours*

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

Filière C : Anton KOVALENKO, *CBM, UPR4301 CNRS, Orléans*

Nanosized bimodal imaging agents based on ytterbium complexes

**PAUSE-CAFE**

Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 – Modération: Sébastien ROGER  
 Session Pitches (9 pitches 1 min 30)

**PHOTO DU GROUPE & REPAS**

**Modération : Henri SALMON**

Frédéric LEVY, *CNRS, IFCE, INRAE, Univ de Tours, Physiologie de la Reproduction et des Comportements (PRC), F-37380, Nouzilly*  
 Déterminants comportementaux et neurobiologiques du comportement maternel chez les ovins

**Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 - Modération : Agnès DELMAS & Christelle SUPPO**

Filière D : Flavie DEROQUIN TOCHON, *PRC, INRAE, Tours*

Décryptage des possibles mécanismes centraux d'action du  $\beta$  Nerve Growth Factor (BNGF) dans l'induction de l'ovulation chez la souris

Filière B : Nancy JABBOUR, *ISP, UMR1282, INRAE, Tours*

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

Filière C : Vidian de CONCINI, *INEM, UMR7355 CNRS- Université d'Orléans / CBM, UPR4301 CNRS*

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

Session Pitches (8 pitches 1 min 30) Modération : Isabelle VIRLOGEUX-PAYANT

**ASSEMBLEE GENERALE**  
**PAUSE-CAFE**

**Modération : Christian ANDRES**

Kathia ZALETA RIVERA, *Chercheuse Le Studium, Institut du cerveau (iBrain), UMR1253 Inserm-Université de Tours*  
 Protein translation enhancement therapy for the treatment of neurodegenerative diseases

Moez RHIMI, *Institut Micalis, AgroParisTech, INRAE, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas*  
 Proteolytic homeostasis at the cutting edge of IBD: Focus on gastrointestinal inflammation

**Présentations de l'Ecole Doctorale SSBCV 549 – Modération : Florian GUILLOU**

Session Pitches (8 pitches 1 min 30)

**SESSION POSTER**  
**APERITIF**  
**REPAS & SOIREE BIOTECHNOCENTRE**

**SESSION 1**

9h 30 - 10h 15

**SESSION 2**

10h 15 - 10h 30

10h 30 - 10h 45

10h 45 - 11h 00

11h 00 - 11h 30

**SESSION 3**

11h 30 - 11h 50

**SESSION 4**

11h 50 - 12h 20

12h 20 - 14h 00

**SESSION 5**

14h 00 - 14h 30

**SESSION 6**

14h 30 - 14h 45

14h 45 - 15h 00

15h 00 - 15h 15

15h 15 - 15h 35

15h 35 - 16h 05

16h 05 - 16h 30

**SESSION 7**

16h 30 - 17h 00

17h 00 - 17h 45

**SESSION 8**

17h 45 - 18h 00

18h 00 - 19h 45

19h 45 - 20h 00

20h 00



*Les Biosciences en région Centre-Val de Loire*  
**Programme du 33<sup>e</sup> Colloque de Biotechnocentre**  
 Center Parcs Sologne – 7 et 8 octobre 2021  
**VENDREDI 8 Octobre 2021**

**SESSION 9**

9h 00 - 09 h45

Modération : **Nathalie GUIVARC'H**

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

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

9h 45 - 10h 15

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

10h 15-10h 45

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

**SESSION 10**

10h 45 - 11h 00

Filière D : **Louis PAILLER**, IRBI, UMR7264 CNRS, Tours  
**Le comportement de body-shaking produit des vibrations complexes chez les termites souterrains**

11h 00 - 11h 15

Filière E : **Juliette LAMAMY**, GICC, EA 7501 - ERL 7001, Tours  
**Modulation de l'expression du récepteur néonatal à la portion Fc des IgG (FcRn) durant la différenciation des monocytes en macrophages**

11h 15 - 11h 30

Filière C : **Jérémy MOLINEAU**, ICOA, UMR7311 CNRS, Orléans  
**Analyse de peptides à visée pharmaceutiques par chromatographie unifiée couplée à la spectrométrie de masse**

**SESSION 11**

11h 30 - 12h 15

Modération : **Jean-Louis DACHEUX**

**Alain DUBLANCHET** Ancien chef du laboratoire de microbiologie au centre hospitalier de Villeneuve-Saint-George  
**Les Bactériophages en thérapie humaine**

12h 15 - 14h 00

**REPAS**

**SESSION 12**

14h 00 - 14h 45

Modération : **Catherine TARAGNAT**

**Éric GUEDON**, L'Institut Agro/Agrocampus Ouest, Science et technologie du lait (STLO), INRAE Rennes  
**Applications biotechnologiques des vésicules extracellulaires**

14h 45 - 15h 15

**Franck GALLARDO**, Président de NeoVirTech  
**NeoVirTech, une entreprise spécialisée dans l'identification de nouveaux anti-viraux**

15h 15 - 15h 45

**Sylvain PINCEBOURDE**, Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI), UMR7261 CNRS-Université de Tours  
**Le rôle du microclimat dans la réponse des insectes au changement climatique**

15h 45  
 16h 30

**REMISE DES PRIX**  
**CLOTURE & ... AQUA MUNDO**



## Projets Covid-19 soutenus par la région Centre-Val de Loire

La pandémie provoquée par le Sars-Cov-2 a engendré une mobilisation mondiale des chercheurs pour lutter contre cette infection. Dès la fin 2019, l'EA-7505 « Éducation, Ethique, Santé » et tout particulièrement l'UMR INSERM- Université de Tours 1259 (MAVIVH) a pris conscience de cette urgence en mobilisant ses compétences et en mettant à profit ses domaines de spécialité pour contribuer à l'effort de recherche sur ce nouveau virus. Quatre projets dont trois très complémentaires ont ainsi pu être initiés grâce au soutien financier de la région Centre-Val de Loire, en collaboration avec des équipes universitaires régionales, des partenaires privés ou des services hospitaliers du CHU de Tours. Reconnue pour ses savoir-faire multiples dans la recherche sur le VIH et les virus des hépatites, l'UMR INSERM 1259 s'est engagée dans l'étude d'approches thérapeutiques innovantes, comme le développement et la caractérisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre le virus, l'identification de nouvelles molécules inhibant spécifiquement l'entrée du virus, ou la caractérisation de la réponse immunitaire développée chez les malades.

### 1.

## Professionnels de la Psychiatrie et Covid-19 en Europe : Gestion de l'Impact Psychologique et Organisation de Crise et Post-Crise Acronyme : Psy-GIPO2C

### Porteur :

Frédéric DENIS, DMD, PhD-HDR, Laboratoire EA-7505 Education, Ethique, Santé, Université de Tours, [frederic.denis@univ-tours.fr](mailto:frederic.denis@univ-tours.fr) / [frederic.denis@chu-tours.fr](mailto:frederic.denis@chu-tours.fr)



### Partenaires académiques :

Wissam EL HAGE & Hervé BRETON, Université de Tours, France

Laurence FOND-HARMANT,  
Agence de Coopération Scientifique Europe - Afrique (ACSEA), Luxembourg

Jocelyn DELOYER & Christine MAES  
Centre Neuro Psychiatrique St Martin (CNP), Namur, Belgique

Marie-Clotilde LEBAS,  
Haute École de la Province de Namur (HEPN), Belgique

Johannes THOME,  
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie Universitätmedizin in Rostock

Donatella MARAZATTI & Andrea POZZA  
Psychopharmacology laboratory at the Department of Psychiatry, Neurobiology, Pharmacology and Biotechnology. University of Pisa, Italie

### Co-Financeurs :

Agence Nationale de la Recherche (ANR)  
Région Centre-Val de Loire



## Contexte / objectif

La survenue de la pandémie de Covid-19 a contraint les structures et organisations ainsi que les professionnels des services de psychiatrie et de santé mentale à adapter leurs fonctionnements et leurs pratiques. Alors que dans de nombreux pays, les secteurs de la psychiatrie et de la santé mentale sont sous-dotés et structurellement sous-tension, un ensemble de mesures ont été déployées afin d'assurer la continuité des prises en soins tout en réduisant le risque de transmission du SARS-CoV-2. Dans ce contexte de crise sanitaire et suite à l'adoption de mesures impactant la santé mentale des populations, ces professionnels doivent également répondre à de nouveaux besoins. Ils sont notamment mobilisés pour soutenir les professionnels du soin dits de première ligne travaillant auprès des malades souffrant de la Covid-19, éprouvés par plusieurs mois d'intenses investissements. Face à ces multiples contraintes et exigences, l'usage des technologies numériques — et notamment le recours aux modalités de télépsychiatrie — a connu un développement sans précédent, s'ajoutant à d'autres formes d'aménagement des prises en charge.

Le projet de recherche Psy-GIPO2C — co-financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) et la Région Centre-Val de Loire — entend questionner, au travers du prisme de la dynamique sociale

et de l'éthique, les impacts de la pandémie de Covid-19 sur les pratiques professionnelles en et santé mentale : éthique de la recherche, du soin et organisation des politiques de santé. Il cible l'acquisition de connaissances relatives aux impacts de cette épidémie sur les professionnels des services de santé mentale qui évoluent dans l'environnement anxiogène de la crise sanitaire; ces professionnels devant assurer leurs fonctions de soins et d'accompagnement, alors qu'eux-mêmes peuvent être en situation de stress et d'anxiété, voire de détresse psychologique. Ces situations, en périodes de confinement et de déconfinement, ne sont pas sans conséquence sur l'organisation de travail et des soins intra et extrahospitalière en temps de crise et de post-crise. Notre projet questionne la pertinence et l'efficacité des adaptations mises en œuvre dans ce contexte inédit, et leur potentiel pour améliorer de manière pérenne l'offre de soins et d'accompagnement en psychiatrie et en santé mentale. Plus spécifiquement, il propose d'analyser l'impact de cette crise sanitaire sur le travail thérapeutique, les conditions d'exercice et le vécu personnel des professionnels de ces secteurs. Enfin, il entend poser les jalons d'une réflexion sur les implications éthiques et déontologiques des aménagements organisationnels et des pratiques professionnelles en contexte de pandémie.



*Les professionnels de la santé mentale et de la psychiatrie impliqués dans la réponse à la Covid-19 en Europe*

## Méthodes et résultats attendus

Ce projet mobilise les méthodes mixtes et sur la base d'une recherche documentaire ainsi que de la collecte de données quantitatives et qualitatives. Il a pour objectif de fournir aux décideurs, des recommandations et des solutions tant sous forme de méthodes de réorganisation, que d'usages outils connectés et non connectés d'accompagnement pour la prise en soins et le suivi des personnes. Dans ce contexte inédit, il s'agit de proposer des clés de compréhension et des moyens de lutter efficacement et opérationnellement dans les situations de pandémie. Notre méthodologie repose sur la réalisation d'une revue de littérature systématique internationale, et la passation de plus 2000 questionnaires dans 23 pays d'Europe, auprès de différents profils de professionnels : aide-soignants en psychiatrie, assistants du service social, éducateurs spécialisés, ergothérapeutes, infirmiers en psychiatrie, kinésithérapeutes, médecins généralistes, psychiatres, pair-aidants professionnels, psychologues, médiateurs de santé pairs, etc. Afin de comprendre plus finement l'expérience et les vécus de ces professionnels, cette recherche a aussi recours aux méthodes qualitatives avec la conduite de 30 entretiens individuels et de 20 entretiens de groupe auprès de professionnels de la santé mentale de cinq pays partenaires : Allemagne, Belgique, France, Italie, Luxembourg. Enfin, dans une perspective opérationnelle, le projet prévoit l'identification d'outils numériques prometteurs et leur test au-

près 100 professionnels utilisateurs.

La combinaison de ces données permettra de documenter les impacts de la pandémie de Covid-19 sur les professionnels européens des services de santé mentale, l'organisation des soins en psychiatrie et les modalités de prises en charge des personnes vivant avec des troubles psychiques au travers de l'Europe. Une attention particulière est donnée aux problématiques éthiques de santé sous-jacentes aux adaptations réalisées dans le contexte de crise sanitaire lié à la Covid-19. Une grille guidant l'évaluation éthique des outils numériques en santé mentale et psychiatrie sera proposée. Plus globalement, ce projet doit ainsi aboutir à la formulation de recommandations souhaitables et souhaitées, pour le secteur de la santé mentale en Europe. En effet, la survenue de la pandémie de Covid-19 interroge la recherche pour développer des travaux interdisciplinaires tant dans le champ de l'accompagnement des usagers des services de psychiatrie et de santé mentale que dans le champ des méthodes et protocoles visant à combattre, soigner ou protéger du virus une population vulnérable.

En conclusion, notre projet propose ainsi une recherche approfondie et une réflexion sur les leçons à tirer de la crise, pour les services intra et extrahospitaliers en lien avec les soins somatiques et l'éthique des usages de la e-santé et m-santé, dans le champ de la psychiatrie et de la santé mentale.

## 2.

### Développement de molécules ciblées sur l'interaction entre l'enveloppe du SARS-Cov2 et le récepteur cellulaire ACE2

Acronyme : ACE2-S-Cov

#### Porteur :

Hugues de ROCQUIGNY, UMR INSERM - Université de Tours 1259 (MAVIVH) 2, boulevard Tonnellé, 37044 Tours (voir la présentation du laboratoire dans la lettre d'information de Biotechnocentre n°73, <http://www.biotechnocentre.fr/>).

Email : [hderocquigny@univ-tours.fr](mailto:hderocquigny@univ-tours.fr)

En collaboration avec Marianne MAQUART et Anne BULL.





**Partenaires académiques :**

Vincent ROY, UMR CNRS – Université d'Orléans  
7311 (ICOA) - Rue de Chartres, 45067 Orléans.

**Co-Financeurs :**

Agence Nationale de la Recherche (ANR)  
Région Centre-Val de Loire

**Contexte/objectif**

Comme d'autres coronavirus, le CoV-2 du SRAS utilise sa protéine d'enveloppe S (pour « spike ») pour faciliter l'entrée des cellules. Cette protéine s'associe en trimère et forme des pointes d'environ 20 nm de hauteur donnant les structures de couronne typiques des coronavirus. Ces pointes sont la principale cible de la réponse immunitaire humorale induisant la formation d'anticorps neutralisants. Des régions hypervariables ont été identifiées au sein de la protéine S, qui permettent au SARS-CoV-2 d'échapper au système immunitaire et d'étendre son tropisme cellulaire. La protéine S est une protéine de fusion de classe I similaire aux protéines de fusion de nombreux autres virus, y compris la glycoprotéine de surface du virus Ebola (EBOV). S est divisée en 2 sous-unités fonctionnelles distinctes: la sous-unité S1 à la surface de l'enveloppe qui dirige l'interaction de la particule virale avec la cellule cible et détermine le tropisme tissulaire du virus, et la sous-unité transmembranaire S2, qui est responsable de la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire.

S1 possède un domaine indispensable à la reconnaissance (Receptor Binding Domain, RBD) du récepteur cellulaire de l'hôte, la protéine de l'enzyme 2 de conversion de l'angiotensine (ACE2). ACE2 est également utilisée comme récepteur par le SARS-CoV1, malgré les différences de résidus clés en interaction entre le SARS-CoV-1-ACE2 et le SARS-CoV-2-ACE2, ce qui pourrait expliquer la propagation rapide et l'extrême gravité du SARS-CoV-2 chez certains individus. L'ACE2 est un composant essentiel du système rénine-angiotensine (SRA). Elle est exprimée dans les cellules épithéliales alvéolaires pulmonaires de type II. Toutefois, ACE2 est également exprimée dans de nombreuses autres cellules, dans d'autres tissus, notamment les entérocytes, les cellules endothéliales artérielles et veineuses et les cellules musculaires lisses artérielles, ce qui explique la défaillance de plusieurs organes observée chez de nombreux patients atteints de COVID-19 grave.

La structure cristalline du complexe entre la protéine S de SARS-CoV-2 et ACE2 a récemment été élucidée ouvrant la voie à la synthèse de principes actifs ciblant la reconnaissance des récep-

teurs par le virus. Ce domaine de liaison la protéine S de SARS-CoV-2 avec ACE2 forme une interface très large avec beaucoup de contacts ce qui correspond à une affinité nettement plus élevée que l'interaction SARS-CoV-1/ACE2. Près de 20 résidus d'ACE2 ont été cartographiés en deux hélices distantes qui sont rapprochées spatialement l'une de l'autre dans la structure tridimensionnelle de la protéine. Il faut ici noter que les nombreux variants qui progressivement émergent sont caractérisés par des mutations notamment – mais pas exclusivement - dans le domaine S (E484K, N501Y, D614G).

Le partenaire Orléanais possède une série de composés hétérocycliques qui sont actuellement testés au sein de l'UMR INSERM 1259. En se basant sur les coordonnées tridimensionnelles du complexe protéine S/ACE2, une étude bio-informatique permettra de proposer des modifications chimiques de ces composés qui seront ensuite synthétisés pour une évaluation biologique. Les modèles structuraux proposés avec les mutations trouvées dans les variants, notamment dans le domaine RBD, seront inclus dans cette étude. En parallèle, le criblage virtuel de bibliothèques de composés commerciaux, en particulier ceux qui se concentrent sur l'inhibition des interactions protéine-protéine, a été initié afin de suggérer de nouveaux substituts ou points de départ chimiques pour la synthèse de composés innovants et efficaces.

Le potentiel antiviral des composés hétérocycliques est évalué sur le variant B.1.1.7 (dit variant « britannique ») très majoritaire en Europe se répliquant dans des cellules Vero cultivées en laboratoire de biosécurité biologique de niveau 3. Dans un premier temps nous évaluons la cytotoxicité des molécules puis leur effet sur la répllication virale par ECP (Effet CytoPathogène) donnant la concentration en molécule inhibant 50% des virus.

En conclusion, de projet qui associe des équipes de Tours et d'Orléans devrait permettre d'obtenir une famille de molécules non toxiques capable d'inhiber la répllication du virus à faible concentration.

## 3.

## Développement express d'anticorps monoclonaux thérapeutiques pour le traitement du COVID-19

### Acronyme : MAbCOVID

#### Porteur :

Denys BRAND, UMR INSERM- Université de Tours 1259 (MAVIVH) - 2, boulevard Tonnellé, 37044 Tours. - Email : [denys.brand@univ-tours.fr](mailto:denys.brand@univ-tours.fr)

En collaboration avec Marianne Maquart, Anne Bull, Julie Migraine et Emmanuelle Roch.



#### Partenaires académiques :

Antoine TOUZE et Pauline GABORIAUD, UMR INRAE-Université de Tours 1282 (ISP), Equipe Biologie des Infections à Polyomavirus (BIP), Centre INRAE Val de Loire, 37380 Nouzilly.



#### Partenaires non académiques :

Astrid MUSNIER et Vincent PUARD, Société MAbSilico - Le HQ, 1 impasse du Palais – 37000 Tours (voir la présentation de l'entreprise dans la lettre d'information de Biotechnocentre n°73, <http://www.biotechnocentre.fr/>).

### Objectif

Dans le contexte de la pandémie de SARS-CoV-2, l'immunisation passive constitue une approche de choix pour prévenir l'infection par ce virus et/ou l'évolution de la COVID-19 vers une forme grave. Parmi les thérapies étudiées, les anticorps monoclonaux présentent le plus d'avantages en termes de standardisation et de sécurité vis-à-vis des agents infectieux. Le projet MabCOVID débuté en août 2020 vise à obtenir des anticorps neutralisant le SARS-CoV-2 en utilisant les outils de prédictions bioinformatiques développés par MAbSilico. L'évaluation du potentiel neutralisant de ces anticorps est effectuée au sein de l'UMR INSERM 1259 en utilisant des tests de neutralisation ciblant les différents variants viraux d'intérêt.

### Contexte et problématique

Les thérapies à base d'anticorps monoclonaux ont déjà fait leurs preuves pour les infections à VIH ou par le virus Ebola. Ces anticorps monoclonaux font également partie de l'arsenal thérapeutique utilisé contre le SARS-CoV-2 et deux bithérapies à base d'anticorps sont actuellement disponibles en France sous autorisation temporaire d'utilisation. Ces anticorps ciblent la protéine d'enveloppe S (pour « spike ») qui permet au virus d'interagir avec sa cellule cible via le récepteur ACE2 (pour « angiotensin-converting

enzyme 2 »). Les nouveaux variants d'intérêt du SARS-CoV-2 (variant B.1.1.7 (Alpha), variant B.1.351 (Beta), variant P.1 (Gamma), variant B.1.617.2 (Delta)) présentent d'ores et déjà des mutations dans un domaine de la protéine S (« Receptor Binding Domain », RBD) indispensable à la reconnaissance du récepteur cellulaire. L'existence de ces variants compromet ainsi l'efficacité de plusieurs anticorps monoclonaux utilisés en thérapeutique et nécessite de poursuivre le développement d'anticorps à

activités neutralisantes de spectre plus large. MAbSilico utilise des approches bioinformatiques permettant de caractériser des épitopes d'anticorps connus (« MAbTope ») et de prédire de nouvelles séquences d'anticorps à partir d'anticorps connus (« MAbSubstitute ») (Bourquard T., Musnier A. et al., J Immunol. 2018; 201:3096-3105; et brevet WO2018087494). Ces approches sont basées respectivement sur des méthodes de docking moléculaire et sur une mesure de similitude entre les CDR (pour « Complementary Determining Regions ») intégrant à la fois les données séquentielles et structurales. Les nouveaux candidats anticorps ainsi conçus possèdent une séquence linéaire de chaînes variables différente de celle de l'anticorps modèle (Figure 1). Cette approche a déjà été mise en œuvre pour produire des anticorps dérivés de l'anticorps anti-SARS-CoV-2 BD23 décrit comme neutralisant (Cao Y. et al., Cell. 2020; 182:73-84.e16). Ces anticorps ont montré une bonne reconnaissance du RBD mais pas de la protéine S dans sa configuration trimérique, suggérant la nécessité d'optimiser l'orientation des chaînes VH et VL entre elles. Pour contourner cette difficulté, une méthodologie alternative centrée uniquement sur les domaines variables VH des chaînes lourdes a été appliquée à l'aide de la version initiale de l'algorithme MAbSubstitute qui a été optimisée pour ce format d'anticorps (brevet WO2018087494). L'anticorps anti-SARS-CoV-2 B38 a été choisi comme référence (Wu Y. et al., Science. 2020; 368:1274-1278). Plusieurs dizaines de chaînes VH sont en cours de production en système procaryotes par MAbSilico et leurs propriétés neutralisantes seront prochainement évaluées au sein de l'UMR INSERM 1259. Enfin, une

approche plus traditionnelle été également été initiée par l'équipe BIP (UMR INRAE 1282) qui a produit des hybridomes murins à partir d'un immunogène dérivé de la protéine S soluble trimérisée. Deux hybridomes produisant des anticorps neutralisants ont été identifiés et les séquences d'anticorps vont être analysées par MAbSilico dans la perspective de les intégrer dans nos candidats VH.

Parallèlement aux travaux menés par MAbSilico et l'équipe BIP, l'UMR INSERM 1259 a développé les méthodologies permettant d'évaluer in vitro le potentiel neutralisant des anticorps vis-à-vis des variants d'intérêt du SARS-CoV-2. L'unité dispose actuellement d'une quinzaine de souches incluant des variants Alpha, Beta, Gamma et Delta. Ces virus sont cultivés sur cellule Vero. L'efficacité de la neutralisation est mesurée par l'absence d'effet cytopathique (ECP) sur une gamme de concentrations d'anticorps, donnant ainsi la concentration inhibant 50% des virus (IC50).

Ce projet collaboratif, incluant des partenaires universitaires et une société privée de la région Centre-Val de Loire, devrait permettre de développer des outils thérapeutiques efficaces dans la lutte contre la COVID-19 et rapidement adaptables à de nouveaux variants d'intérêt du SARS-CoV-2. L'optimisation de la mise en œuvre d'approches bioinformatiques dans ce domaine permettra un gain de temps considérable dans les contextes pandémiques où la rapidité d'obtention de moyens thérapeutiques est une priorité.

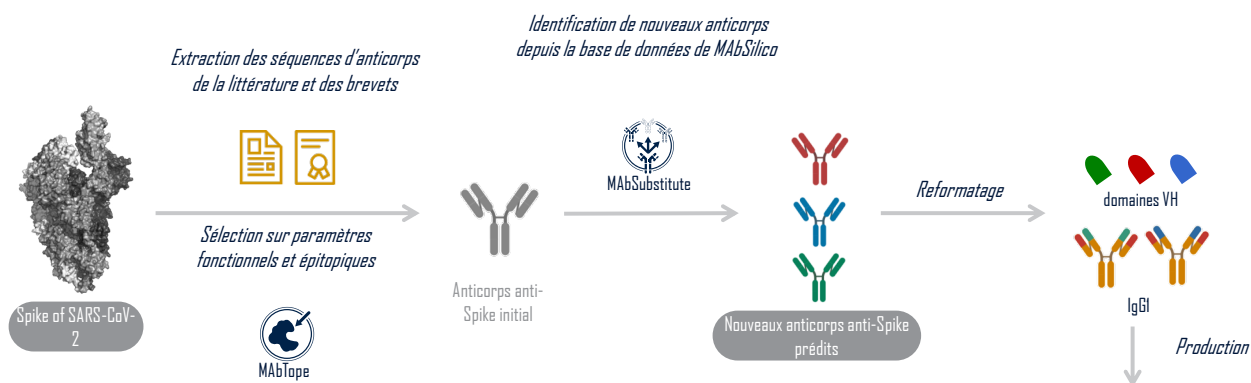


Figure 1 : Identification in silico des candidats anticorps à l'aide de la technologie MAbSubstitute, MAbSilico

## 4.

## Mise au point d'un test rapide d'évaluation et de caractérisation de la réponse immune spécifiquement dirigée contre le SARS- CoV-2

### Porteurs :

Christophe HOURIOUX, Sébastien EYMIEUX et Charline HERRSCHER, UMR INSERM - Université de Tours 1257 (MAVIVH) - 2, boulevard Tonnellé, 37044 Tours.

Emails : [hourieux@med.univ-tours.fr](mailto:hourieux@med.univ-tours.fr),  
[sebastien.eymieux@etu.univ-tours.fr](mailto:sebastien.eymieux@etu.univ-tours.fr) et  
[charline.herrscher@etu.univ-tours.fr](mailto:charline.herrscher@etu.univ-tours.fr)



### Partenaires académiques :

Unité de virologie Hospitalière du CHU de Tours (Pr C. GAUDY-GRAFFIN, Dr J. MARLET)

Service d'information médicale et plateforme d'épidémiologie des Données cliniques en région Centre Val de Loire du CHU de Tours (Dr L. GRAMATICO-GUILLON).



### Objectif

La biologie moléculaire a indéniablement constitué un outil de réponse rapide et efficace à la situation de crise que nous vivons actuellement, requérant des méthodes sensibles et spécifiques pour le diagnostic de l'infection aiguë par le SARS-CoV-2. Cependant, ces outils de première ligne, bien adaptés à une situation d'urgence, se révèlent largement insuffisants pour constituer des outils de suivi épidémiologique de l'infection, utilisables dans les mois voire les années à venir. Il est donc indispensable de disposer d'outils simples, capables de mesurer à l'échelle d'une population la survenue du contagement viral, ainsi que la séroprévalence à des échelles régionales et nationales. Ces données apparaissent aujourd'hui comme essentielles devant la grande diversité des formes cliniques de COVID comprenant notamment des cas asymptomatiques. De ce fait, il est difficile d'estimer avec précision la proportion de la population ayant véritablement été en contact avec le SARS-CoV-2 en se basant uniquement sur les tests positifs dont la réalisation a été motivée par la symptomatologie. L'objectif est ici de développer rapidement un test immuno-enzymatique de type ELISA, facilement utilisable et transposable pour la communauté médicale et scientifique, au plus près des patients. Ainsi l'objectif sera de décliner ces tests en fonction de leur finalité d'utilisation (indicateur de santé publique ou étude fondamentale des potentiels épitopes vaccinaux), après détermination de la réactivité immunologique liée à la réponse humorale de type IgG.

### Contexte et problématique

L'infection par le SARS-CoV-2 débute par l'interaction de la glycoprotéine d'enveloppe du virus S (pour « spike ») avec le récepteur cellulaire ACE-2. Du fait de son rôle essentiel dans l'infection et sa physiopathologie, cette protéine a très rapidement suscité l'intérêt des chercheurs, dans des perspectives thérapeutiques ou préventives. Sur un plan plus fondamental, la structure tridimensionnelle de cette protéine, organisée en trimère, a rapidement

été déterminée, notamment en s'appuyant sur les données d'autres coronavirus apparentés (HCoV responsables de formes respiratoires bénignes). L'ensemble de ces connaissances a ainsi bénéficié à la mise au point de vaccins, quasi exclusivement ciblés sur le développement d'une réponse immunitaire spécifiquement dirigée contre la protéine S. Sur le plan de l'étude de la réponse immunitaire après infection ou vaccination, les premiers tests sé-

rologiques ont également ciblé cette protéine S, mais aussi la protéine N de nucléocapside, l'utilisation combinée de ces deux cibles virales permettant d'affiner l'interprétation des résultats des tests sérologiques utilisés dans le cadre d'une infection par le SARS-CoV-2.

L'objectif de ce projet est de caractériser plus finement cette réponse immunitaire humorale, en particulier par la détermination des épitopes majeurs situés sur les protéines structurales du virus, permettant potentiellement de mieux cibler les régions importantes dans le développement de vaccins plus efficaces, déclenchant une réponse anticorps suffisamment neutralisante vis à vis de l'infection.

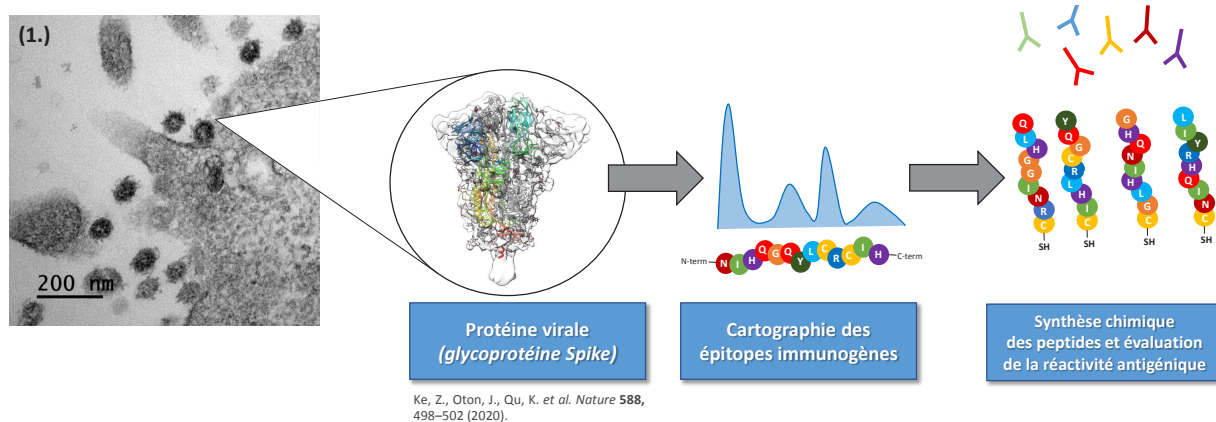
Ainsi, la prédiction des séquences antigéniques de différentes protéines structurales du virus nous a permis de sélectionner un large panel de peptides. Ces peptides peuvent être obtenus rapidement par synthèse chimique avec un haut niveau de pureté mais ils présentent toutefois l'inconvénient de ne pouvoir évaluer que des épitopes linéaires. En revanche, leur utilisation pourrait permettre d'améliorer la spécificité des tests, par la prédiction et le choix de domaines protéiques spécifiques du SARS-CoV-2, et par l'exclusion des régions conservées avec les autres coronavirus, en particulier ceux circulant de façon saisonnière en Europe (souches NL63, OC43, et 229E).

La finalité générale de cette approche sera d'identifier des différences qualitatives et/ou quantitatives de la réponse immunitaire humorale des individus en fonction de critères sociodémographiques ou clinico-biologiques. En particulier, ces tests pourraient permettre de mieux comprendre les différences de sévé-

rité liées à l'âge, avec une infection peu ou pas symptomatique chez l'enfant et le jeune adulte et des formes graves observées chez les personnes plus âgées.

Ce type d'approche vise également à évaluer la persistance de la réponse humorale au cours du temps et mesurer la robustesse de cette réponse humorale vis-à-vis de l'émergence potentielle de nouveaux variants circulants. Ceci permettra en outre d'identifier les protéines et les régions peptidiques les plus immunogènes dans la perspective du développement de candidats vaccins de deuxième génération. Une attention particulière sera portée sur l'étude des séquences qui se révéleront conservées au cours du temps chez les souches de SARS-CoV-2 circulantes, susceptibles d'induire des anticorps spécifiques à titres élevés et protecteurs, malgré la survenue de mutations dans l'ARN viral. Une des hypothèses épidémiologiques actuelles, qui évoque une persistance de la diffusion de l'infection sur le long terme dans les populations, impliquerait une vaccination périodique des individus, notamment en raison l'émergence continue de nouveaux variants échappant aux vaccins. C'est pourquoi la définition d'immunogènes efficaces capable de neutraliser avec un large spectre les virus émergents sera une question cruciale dans l'amélioration des stratégies de prévention et de contrôle de cette pandémie.

Ces travaux sont réalisés en collaboration avec différentes structures du CHU de Tours, l'unité de virologie hospitalière, le laboratoire de biochimie et la plateforme de recherche et d'épidémiologie des données cliniques en Centre Val de Loire (SIMEES).



Les peptides ont été sélectionnés après analyse de la structure 3D de la glycoprotéine spike et de leur immunogénicité potentielle. Après synthèse, leur réactivité a été évaluée vis-à-vis de sérums de patients infectés par le Sars-Cov-2 (Eymieux S. et al. *Ultrastructural modifications induced by SARS-CoV-2 in Vero cells: a kinetic analysis of viral factory formation, viral particle morphogenesis and virion release. Cell. Mol. Life Sci.* 2021, 78, 3565-3576).

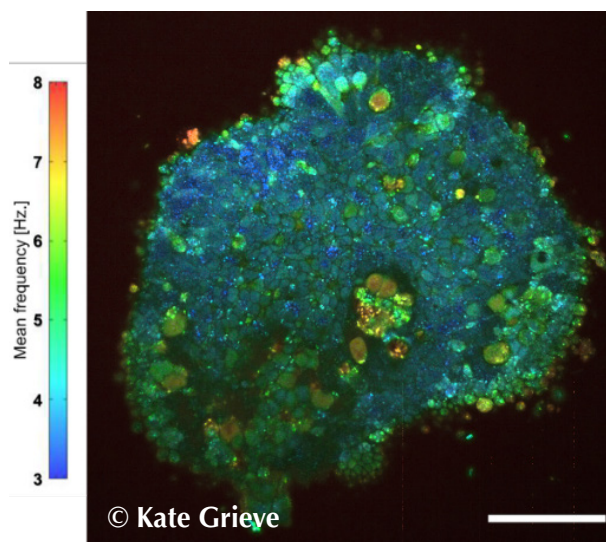
## 6<sup>e</sup> journée thématique de Biotechnocentre « Cellules souches et organoïdes : réalités et perspectives »

La 6<sup>e</sup> Journée Thématique intitulée « Cellules souches et Organoïdes : réalités et perspectives » s'est déroulée le 25 juin 2021. Au regard du contexte sanitaire, elle s'est tenue sous forme de webinaire et a remporté un vif succès. Environ 150 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 ces technologies en plein essor ([https://www.canal-u.tv/producteurs/le\\_studium/biotechnocentre/6e\\_journee\\_thematique\\_25\\_juin\\_2021\\_cellules\\_souches\\_et\\_organoides\\_realites\\_et\\_perspectives](https://www.canal-u.tv/producteurs/le_studium/biotechnocentre/6e_journee_thematique_25_juin_2021_cellules_souches_et_organoides_realites_et_perspectives)).

**Les organoïdes, formés à partir de cellules souches ou progénitrices qui s'auto-organisent dans des conditions de culture bien définies, visent à mimer des mini-organes. Leur mise en place ouvre des perspectives innombrables pour la recherche en biologie et en santé**

Pour ouvrir la journée, **Lucie Laplane** (CNRS, U8590 IHPST, Université Paris 1, U1287 Hôpital Gustave Roussy), qui mène une recherche interdisciplinaire associant philosophie de la biologie, biologie expérimentale et analyse bioinformatique, nous a proposé une réflexion sur la définition de cellules souches. Son exposé a souligné que les cellules souches peuvent avoir des propriétés très différentes selon le tissu et le microenvironnement cellulaire. La connaissance de ces propriétés est cruciale que ce soit pour la recherche fondamentale ou pour les applications thérapeutiques, notamment en cancérologie. Cet exposé a été suivi de trois présentations consacrées au développement de cellules souches et d'organoïdes cérébraux servant différentes causes. **Stéphane Mortaud** (INEM, CNRS, Université d'Orléans) a illustré l'apport des neurosphères obtenues à partir de cellules souches cérébrales pour décrypter les mécanismes de neurotoxicité induits par les facteurs environnementaux. Des altérations de la neurogenèse et de la différenciation des cellules souches en cellules neurogliales ainsi que sur la migration des neuroblastes sont ainsi révélées sous l'action de certains polluants. Les organoïdes cérébraux permettent également d'établir des modèles pour les pathologies neurodégénératives comme nous l'a montré **Bertrand Pain** (SBRI, INSERM-INRAE-Université de Lyon). Ainsi, la comparaison d'organoïdes cérébraux issus de patients atteints de leucodystrophie « CACH » avec des contrôles met en évidence des altérations de prolifération, d'organisation et de profils d'expression de gènes et de protéines. De la même manière, l'établissement de sphéroïdes/organoïdes à partir de cellules souches cancéreuses de glioblastome prélevées chez des patients permet d'appréhender les mécanismes impliqués dans la tumorigenèse. Cela a été démontré par **Mathieu Gabut** (CRCL, INSERM-CNRS, Lyon) qui, en écho avec la présenta-

tion de Lucie Laplane, rapporte l'hétérogénéité des cellules souches cancéreuses rendant peu fiable leur identification à l'aide de marqueurs. La mise en place de tumorisphères, ouvre la voie à des analyses moléculaires haut débit sur cellules uniques et à de nouvelles méthodes d'identification.



La tomographie par cohérence optique plein champ dynamique montre l'activité cellulaire en échelle de couleur HSV dans un organoïde rétinien grâce au contraste basé sur le mouvement intracellulaire. Les couleurs correspondent à la fréquence moyenne du mouvement intracellulaire.

L'étude de ces modèles d'organoïdes ne saurait prendre toute son ampleur sans la conception d'équipement et de matériaux adaptés. **Kate Grieve** (Hôpital National d'Ophthalmologie des Quinzevingts, Paris) a éclairé notre regard avec son exposé sur le développement de la tomographie par cohérence optique plein champ dynamique et son utilisation pour visualiser et analyser l'activité cellulaire d'organoïdes rétiniens. **Didier Letourneur** (LVTS, INSERM, Paris) a montré comment les propriétés des matrices de biopolymères à base de polysaccharides peuvent conditionner la taille mais également la différenciation cellulaire des organoïdes

avec des exemples concernant les vaisseaux sanguins, la régénération osseuse ou le cerveau.

Par la suite, **Sonia Lamandé** (ISP, INRAE-Université de Tours) en collaboration avec **Agnès Wiedemann** (ISP, INRAE-Université de Tours) a exposé la mise en place et l'apport des organoïdes d'intestin dérivés de cryptes intestinales. Ces sphéroïdes s'organisent de manière polarisée comme l'intestin. Ils sont donc un modèle de choix pour la compréhension des interactions hôtes-pathogènes, comme l'illustre l'exemple d'infections avec des salmonelles ou des cryptosporidies pour lesquelles le caractère invasif et la réponse des cellules infectées sont décrits.

Dans le cadre des pathologies pulmonaires, les organoïdes de poumon apportent aussi leur lot d'espoir pour appréhender les déterminants de l'hôte et des pathogènes lors d'une infection. **Céline Cougoule** (IPBS, Toulouse) s'appuie sur la technologie d'organoïdes pulmonaires dérivés de tissus sains ou de patients atteints de mucoviscidose présentant des caractéristiques similaires aux poumons des patients pour modéliser l'infection par un pathogène opportuniste, *Mycobacterium abscessus*.

Dans un autre domaine, celui de la cosmétologie, les organoïdes d'épiderme reconstruits reproduisent des caractéristiques proches de la physiologie telles que la reconstitution du microenvironnement et le taux d'oxygénation. Ils sont ainsi un excellent modèle en dermatologie. **Catherine Grillon** (CBM, CNRS, Orléans) nous l'a illustré au travers de quelques exemples d'application tels que l'effet du plasma froid sur l'épiderme ou l'étude du vieillissement cutané.

L'exposé de **Bruno Clément** (CHU Ponchaillou, Université de Rennes) a contribué à élargir l'éventail d'applications que peuvent avoir les organoïdes. Les organoïdes de foie, de plus en plus élaborés, deviennent incontournables pour comprendre la toxicité et l'action des produits de santé, tout en permettant de se dispenser des tests sur animaux. De plus, ils ouvrent la voie aux approches personnalisées en modélisant les susceptibilités individuelles vis à vis des médicaments.

Pour clore cette journée, **Bernard Baertschi** (Comité d'éthique de l'INSERM) a apporté un éclairage philosophique relevant des questions d'éthique, en particulier pour les organoïdes humains. Parmi les enjeux éthiques, l'un concerne l'origine des cellules utilisées qui pourrait nécessiter un consentement du donneur ; un autre questionne le statut des

organoïdes : à partir de quand doit-on considérer qu'un amas de cellules devient un être vivant ? La réflexion se complique encore dans le cas des organoïdes cérébraux, implantés ou non dans un animal, qui posent le problème de leur sensibilité. À ce stade, aucune norme juridique ne régit ces questionnements.

Les nombreuses questions et échanges au cours de cette journée enrichissante ont montré l'intérêt du public présent pour cette thématique. Il faut souligner que les mini-organes créés *in vitro* offrent des perspectives d'applications variées et prometteuses. En outre, ils semblent constituer une réelle alternative à l'expérimentation animale permettant de respecter le principe des 3R : Remplacer, Réduire, Raffiner (directive européenne 2010/63/UE amendée en 2013).

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 et Le Studium qui en a assuré la logistique. Cette journée **accessible gratuitement** a été rendue possible par un financement de la Région Centre-Val de Loire que nous remercions vivement.

C.T.

**6<sup>e</sup> Journée thématique Biotechnocentre**

**BIO TECHNO CENTRE**

**Vendredi 25 Juin 2021**  
9h-17h  
**WEBINAIRE**

**« Cellules souches et Organoïdes : réalités et perspectives »**



**Inscription gratuite**

via: **lien Web en construction qui sera très prochainement communiqué**  
(en attendant, vous pouvez envoyer un message à Bertrand Castaing pour manifester votre intérêt à participer à cette journée: [castaing@cnrs-orleans.fr](mailto:castaing@cnrs-orleans.fr))

Programme à venir sur <http://www.biotechnocentre.fr/>

## Trois questions à Adrian Wolstenholme, chercheur « Le Studium »

### • Who are you? What is your background ?

I am a British parasitologist and my home institution is the College of Veterinary Medicine of the University of Georgia, USA. My first degree was in Biochemistry and then I obtained a PhD from Cambridge University, studying *influenza* virus replication. I did post-doctoral work in virology at the National Institute for Medical Research and the London School of Hygiene and Tropical Medicine before I obtained my first faculty position at the University of Bath. During my time in Bath, my research interests evolved into a fascination with the nervous system of parasitic nematodes, especially as a drug target. This led naturally into the problem of drug resistance in these organisms, and I have tended to concentrate my efforts on ivermectin and resistance to it. Ivermectin has been described as a wonder drug, and

is an essential part of global programmes to control and eliminate human and animal parasitic diseases. These interests evolved further when I moved to Georgia in 2009, and I began to study the filarial parasites that cause heartworm disease in dogs and lymphatic filariasis in people. These studies were advanced by the recognition of drug resistance in heartworms. In order to bring the community together, and to advance the study of parasitic nematodes, I partnered with Richard Martin, Iowa State University, to organise a series of five symposia on all aspects of anthelmintic drugs.

## LE STUDIUM

Loire Valley  
Institute for Advanced Studies

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

I am visiting the laboratory of Dr Cedric Neveu, who is based in the Infectiologie et Santé Publique Unit of the INRAE Research Centre at Nouzilly. About 6 years ago, Dr Neveu visited my laboratory in Georgia for 3 months and we have been collaborating ever since. We have overlapping research interests and have developed similar and complementary approaches to studying drug resistance in parasitic worms. In particular, we have both been developing the idea of expressing genes from parasitic species in *C. elegans*, a free-living species that is widely



studied as a model organism for basic and applied research. There are great tools available for working with *C. elegans*, both for genetic manipulation and for measuring the phenotypic consequences of those manipulations, so why not see if we can adapt them for studying our target parasites. In contrast, the biology of parasitic worms makes them difficult and expensive to manipulate. Our first objective is to delete specific genes from *C. elegans* and to replace them with their counterparts from parasites of both drug resistant and sensitive isolates, thus allowing a much more straightforward analysis of gene function and a direct measurement of the effects of specific changes on drug sensitivity. In our case, the genes of interest are those that code for drug targets, specifically ivermectin, and which may be mutated in resistant strains. This is achieved

able for working with *C. elegans*, both for genetic manipulation and for measuring the phenotypic consequences of those manipulations, so why not see if we can adapt them for studying our target parasites. In contrast, the biology of parasitic worms makes them difficult and expensive to manipulate. Our first objective is to delete specific genes from *C. elegans* and to replace them with their counterparts from parasites of both drug resistant and sensitive isolates, thus allowing a much more straightforward analysis of gene function and a direct measurement of the effects of specific changes on drug sensitivity. In our case, the genes of interest are those that code for drug targets, specifically ivermectin, and which may be mutated in resistant strains. This is achieved



ved using CRISPR/Cas9. However, we have found it difficult to delete several of these target genes from *C. elegans*, which is surprising as there are many mutant strains available with parts of these genes missing, and which should not make any functional proteins. This suggests that there must be



an essential function of these genes which is not represented by the known products that they encode. This has led to a slight reframing of the project; what is going on with these genes? Does it have anything to do with drug resistance? We also have some very interesting data, which have resulted from our long-term collaboration, about other products produced by some of these genes that we are trying to follow up.

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

The Region clearly has a vibrant and active research community, and the INRAE lab is an international centre of excellence. The pandemic has, unfortunately, limited my contact with other researchers in the Region and elsewhere in France, but I am hoping that more such contacts will be possible in the final few months of my stay here. Of course, over the past two years almost everything has been disrupted, including at my home institution, and it is not clear exactly what sort of parasite research community remains in place in Georgia, as several colleagues have moved on. Nonetheless, it is my intention to maintain collaborative and intellectual links with Dr Neveu and his team. We have already acted as co-applicants on a grant proposal in Australia and I have agreed to act as a paid consultant for some of his on-going research after the end of my current Fellowship. That will keep me in the Region for a little while longer! Even after I do finally leave, I very much hope and intend to pay many return visits to Tours when travel becomes easier again.

*Propos recueillis par A.M.*



**Adrian WOLSTENHOLME**

*LE STUDIUM Loire Valley Institute for Advanced Studies*

*Unité mixte de recherche « Infectiologie et Santé Publique »*

*INRAE Centre Val de Loire*

*Nouzilly*

## Immunologie et Neurogénétique Expérimentales et Moléculaire (INEM), UMR7355 CNRS - Université d'Orléans




L'INEM, issue de l'IEM (Immunologie et Embryologie Moléculaires, UMR6218), a été créée en 2012 et reconduite en 2018, avec une nouvelle constellation d'équipes jeunes ou déjà bien ancrées. Unité mixte de recherche labellisée par le CNRS et l'Université d'Orléans (UMR7355), l'INEM est située sur le campus CNRS d'Orléans. Composée d'une quarantaine de personnes (13 HDRs), dont 27 permanents (Chercheurs, Enseignants-chercheurs, praticiens hospitaliers, personnels administratifs et techniques), des contractuels (Post-doctorants, ingénieurs) et 6-8 doctorants.

L'INEM s'attache à développer et étudier des modèles murins de maladies humaines dans le domaine de l'immunologie et la neurogénétique afin de comprendre les régulations et les mécanismes moléculaires impliqués. Les pathologies étudiées incluent l'infection et l'inflammation pulmonaire, l'asthme et la fibrose pulmonaire, mais aussi les maladies neurodéveloppementales liées à des désordres génétiques ou à l'exposition à des toxines ou pesticides.

### Équipe **Réponses immunes aux infections et polluants** :

- Groupe « Inflammation, signaux de danger, infection et pathologies pulmonaires » I.Couillin
- Groupe « Allergie, infection respiratoire et immunité » V.Quesniaux

### Équipe **Neurogénétique et Neurotoxicologie développementale** :

- Groupe « Neurotoxicité du développement » S.Mortaud
- Groupe « Neurogénétique de l'autisme et des déficiences mentales » S.Briault

L'INEM est labellisée « équipe FRM », de la Fondation pour la Recherche Médicale depuis 2020. L'INEM est Laboratoire International Associé (LIA) « Lung Inflammation » avec l'Université de Sao Paulo, Brésil depuis 2012, permettant des échanges d'étudiants, ingénieurs et chercheurs.

Une création d'entreprise et un Laboratoire commun : Artimmune, entreprise de recherche préclinique (SAS créée en Janvier 2010 ; 8 CDI, Président F. Trovero), effectue des études précliniques *in vitro* et *in vivo* pour tester l'efficacité de candidats médicaments dans des modèles murins de pathologies respiratoires, telles que l'asthme allergique, le syndrome de détresse respiratoire aiguë ou la fibrose pulmonaire. L'INEM et Artimmune se sont engagés dans un Laboratoire commun 'ArtInem' depuis 2016.

L'INEM a publié plus de 125 articles ces 5 dernières années dans des revues internationales à comité de lecture, dont >25 avec un impact factor >10. Les équipes bénéficient du soutien du CNRS, de l'Université d'Orléans et du CHRO, mais aussi de l'ANR, la FRM, la VLM, l'Union Européenne, notamment par les Fonds Européen de Développement Régional, et de la Région Centre-Val de Loire.

### Focus sur l'équipe **'Réponses immunes aux infections et polluants' : groupe 'Inflammation, signaux de danger, infection et pathologies pulmonaires'**

Isabelle Couillin : [couillin@cnrs-orleans.fr](mailto:couillin@cnrs-orleans.fr) / Nicolas Riteau : [nriteau@cnrs-orleans.fr](mailto:nriteau@cnrs-orleans.fr)

L'équipe étudie les signaux de danger, senseurs et voies de signalisation à l'origine de l'inflammation pulmonaire dans les pathologies telles que le SDRA (Syndrome de Détresse Res-

piratoire Aiguë), la fibrose et l'emphysème pulmonaires.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, la Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive

(BPCO) est la troisième cause de mortalité dans le monde. L'exposition répétée à la fumée de cigarette est la principale cause de l'inflammation pulmonaire chronique et de l'emphysème pulmonaire qui est caractérisé par une atteinte irréversible de la structure des parois alvéolaires. La fibrose pulmonaire idiopathique (FPI), la plus grave des maladies pulmonaires interstitielles, est une pathologie dévastatrice caractérisée par une dérégulation des processus de réparation mis en place lors d'un dommage du tissu pulmonaire. Cela se traduit par une cicatrisation des poumons conduisant à une perte progressive de la fonction respiratoire. Les causes de la FPI restent à ce jour peu connues. Cependant cette pathologie se développe souvent chez les fumeurs et les anciens fumeurs. La FPI et la BPCO sont des maladies irréversibles et les traitements actuels

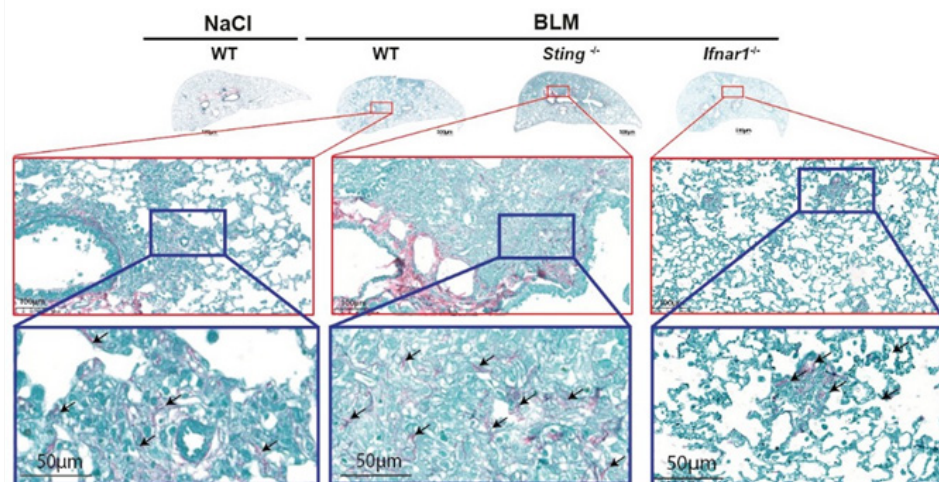
ont une efficacité très limitée. Les événements immunologiques conduisant à ces pathologies ne sont pas bien compris.

Notre équipe a pour objectif de décrypter les mécanismes physiopathologiques de ces maladies. Nos recherches visent à identifier les molécules endogènes (ou signaux de danger libérés suite à un endommagement du tissu pulmonaire), leurs senseurs cellulaires et les voies de signalisation activées lors de la mise en place des réponses innée et adaptative.

Nous utilisons des modèles expérimentaux murins de pathologies pulmonaires comme l'exposition à la fumée de cigarette ou à d'autres polluants, ainsi que l'administration au niveau des voies respiratoires de bléomycine, pour provoquer une fibrose, ou de protéases afin d'induire un emphysème pulmonaire.

Nous avons identifié l'acide urique et l'ATP comme étant des signaux de danger capables d'activer l'inflammasome NLRP3, ceci conduisant à la maturation et la sécrétion de l'interleukine (IL)-1 $\beta$  cytokine pro-inflammatoire

essentielle dans ces processus pathologiques. Nous étudions actuellement les fonctions émergentes des inflammasomes canoniques (NLRP3, NLRP6) et non canoniques, en lien avec l'influence du microbiote intestinal et pulmonaire sur l'inflammation pulmonaire. Nous analysons également le rôle des acides nucléiques du soi qui peuvent activer d'autres récepteurs intracytosoliques comme cGAS-STING et les voies



**Figure 1 : La déficience en STING conduit à une fibrose exacerbée indépendamment de la signalisation des interférons (IFN) de type I.** Des souris WT, *Sting*<sup>-/-</sup> et déficientes pour le récepteur aux IFN de type I (*Ifnar1*<sup>-/-</sup>) ont été traitées avec une solution saline (NaCl) ou de l'agent inducteur de la fibrose (bléomycine, BLM 3 mg/kg intranasale) et les poumons ont été collectés après 14 jours. Les images montrent des coupes histologiques de poumons en coloration Red Sirius/Fast Green qui marque les fibres de collagène en violet. Les rectangles rouges et bleus montrent des agrandissements et les flèches noires le dépôt de collagène.

de signalisation des interférons de type I et III. De plus, nous nous intéressons aux fonctions du facteur d'activation des cellules B (BAFF) à l'interface entre immunité innée et adaptative.

Une meilleure compréhension de la pathogenèse et des phénomènes impliqués dans ces pathologies devrait permettre d'identifier et de valider certains ligands ou récepteurs comme cibles thérapeutiques, pouvant servir de base à des tests de criblage pour sélectionner des molécules d'intérêt pharmacologique.

Nous avons récemment identifié le rôle protecteur du senseur de l'ADN STING dans la fibrose pulmonaire (**Figure 1** ; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33488589/>).

Nous avons également montré récemment que la sécrétion de la protéine BAFF (B-Cell Activating Factor) par les neutrophiles joue un rôle important dans l'inflammation pulmonaire consécutive à l'exposition aiguë à la fumée de cigarette (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32849550/>)

## Focus sur l'équipe 'Réponses immunes aux infections et polluants' : groupe 'Inflammation, signaux de danger, infection et pathologies pulmonaires'

Valérie Quesniaux [quesniaux@cnr-orleans.fr](mailto:quesniaux@cnr-orleans.fr) / Dieudonnée Togbe [dieudonnee.togbe@cnr-orleans.fr](mailto:dieudonnee.togbe@cnr-orleans.fr)

Après avoir étudié le rôle des récepteurs de reconnaissance de pathogènes (PAMPs) et de leurs voies de signalisation dans la réponse de l'hôte à l'inflammation et à l'infection, nous avons mis en évidence le rôle de l'inflamma-

gique en utilisant comme approches expérimentales des modèles animaux et cellulaires. L'asthme allergique neutrophilique est une forme exacerbée de l'asthme allergique, associé à une infection ou à des polluants (**Figure 2**).

### Allergènes :

- Acariens
- Pollen de bouleau
- Moisissures (*Aspergillus/Alternaria*)

### Polluants :

- Particules de diesel / ozone/silice

### Pathogènes :

- Virus/bactéries



### Etude des mécanismes de l'inflammation pulmonaire :

- Etude des réponses immunes suite à l'endommagement de la barrière épithéliale
- Etudier les mécanismes de détection de l'ADN extracellulaire comme moteur de l'inflammation dépendante des interférons de type I et III.
- Comprendre le rôle des NETs (Neutrophiles Extracellular Traps) et des plaquettes
- Rôle des cellules neuroendocrines (Brush cells) et des métabolites (succinate, propionate, butyrate)

Cet asthme est souvent très résistant aux traitements classiques et stéroïdiens chez l'homme et nécessite de trouver des traitements plus efficaces. Nous proposons de décortiquer les mécanisme d'activation de l'asthme sévère

**Figure 2 :** Quatre axes majeurs d'étude de l'asthme allergique neutrophilique

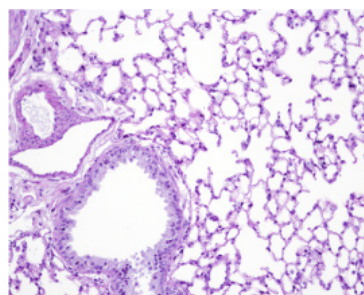
some NLRP3 et la famille IL-1, notamment l'IL-33 en tant qu'acteur de l'inflammation pulmonaire et de la neuro-inflammation. Nous avons aussi identifié IL-17A, IL-22 et les cellules lymphoïdes innées (ILCs) comme acteurs essentiels de l'asthme modéré (<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.08.044>). Plus récemment, nous nous sommes intéressés à la voie de détection de l'ADN cGAS/STING et son rôle dans la réponse de l'hôte à l'infection, mais aussi dans la détection de l'ADN du soi pendant l'inflammation stérile induite par la silice, et dans le cas d'une exposition conjointe (<https://doi.org/10.1038/s41467-018-07425-1>).

L'équipe s'attache actuellement à étudier les mécanismes d'exacerbation de l'asthme aller-

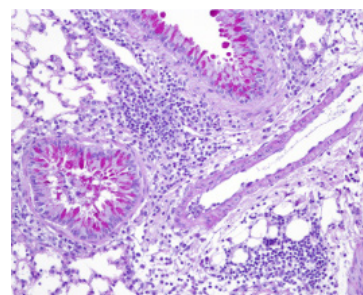
neutrophilique et réfractaire au niveau moléculaire et cellulaire (**Figure 2**).

Les approches proposées sont pluridisciplinaires intégrant à la fois des techniques de biochimie (dosage de cytokines, Western blot), de biologie cellulaire (culture primaire de cellules épithéliales, macrophages, cellules dendritiques, ILCs), de cytométrie en flux (Marquage cellulaire et tri cellulaire), d'histologie de coupes et coloration de poumons asthmatiques (**Figure 3**), et d'immunofluorescence pour la mise en évidence de marqueurs spécifiques, de physiologie respiratoire (mesure de la fonction respiratoire en pléthysmographie) et de transcriptomique (Single cell RNA sequencing) pour évaluer la réponse inflammatoire.

### Poumon sain



### Poumon asthmatique



**Figure 3 :** Coupes histologiques de poumons issus d'individus contrôles non asthmatiques et asthmatiques. Coloration PAS (Periodic acid shift) mettant en évidence la production de mucus par les cellules épithéliales bronchiques (coloration rose).

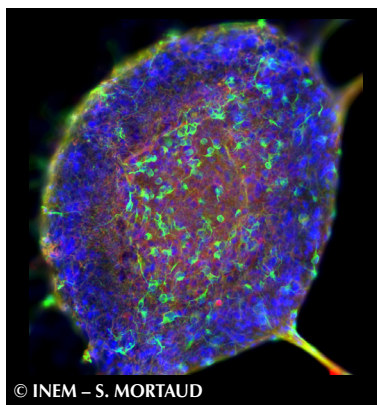
## Focus sur l'équipe 'Neurogénétique et Neurotoxicologie développementale': Groupe Neurotoxicité & Développement

Stéphane Mortaud [smortaud@cnsr-orleans.fr](mailto:smortaud@cnsr-orleans.fr)

La thématique générale de l'équipe est développée à l'INEM depuis 2010. Elle porte sur la vulnérabilité du système nerveux aux facteurs environnementaux au cours du développement, notamment suite à l'exposition à des xénobiotiques (pesticides, toxines, etc.) à de très faibles doses et de façon chronique pendant la période de gestation et le développement précoce postnatal. En effet il existe dans l'environnement général tout un ensemble de molécules potentiellement toxiques pour notre système nerveux. L'activité humaine a produit un grand nombre de composés chimiques nouveaux. L'augmentation ces dernières décennies du nombre de cas de certaines pathologies du système nerveux dans la population pose la question de l'implication de ces substances anthropiques. La thématique de l'équipe se situe donc dans le cadre de la problématique « one health » (« une santé ») qui promeut une approche intégrée, systémique et unifiée de la santé publique, animale et environnementale. Les périodes prénatales et postnatales sont des périodes essentielles pour le développement du cerveau. Ainsi les perturbations de processus étroitement régulés peuvent avoir un impact négatif sur l'établissement du réseau neuronal, affaiblissant la structure fondamentale du cerveau. Ces modifications peuvent également être responsables de dégradations permanentes, conduisant alors à un large éventail d'impacts négatifs durables dans la vie. Ces principes fondamentaux sont à la base de l'hypothèse de Barker connue sous le nom d'approche DOHaD (*Developmental Origins of Health and Diseases*).

Selon ce concept, la sensibilité à certaines maladies de l'adulte pourrait provenir d'expositions environnementales in utero et néonatales. L'étude des altérations induites par ces expositions est abordée au niveau des réponses physiologiques, adaptatives ou pathologiques, mais aussi au niveau des réponses cellulaires et moléculaires. Nos travaux

portent actuellement sur l'étude des effets de polluants de l'environnement, anthropiques ou naturels, analogues d'acides aminés (ANR NeuroTEM et ARSLA), mais ils ont aussi analysé l'impact sur le neurodéveloppement d'un herbicide mimétique du glutamate (ANR Neuropest) ou encore sur les effets d'un cocktail de molécules représentant des pollutions des eaux de surfaces (APR-IA Région Centre Val de Loire). Les méthodologies utilisées sont pluridisciplinaires puisqu'elles intègrent des approches en biologie cellulaire et moléculaire, en biochimie, en histologie, en transcriptomique, en imagerie, en analyses comportementales post-natales et adultes, en physiologie intégrée. Si les études par des approches in vivo sur l'animal permettent l'analyse d'effets à long termes ou encore l'analyse des aspects intégrés (comportements, etc.), nous développons aussi des approches in vitro à partir de cellules souches et de neurosphéroïdes (**Figure 4**) qui permettent de modéliser les



**Figure 4 :** Neurosphère obtenue à partir d'une culture primaire de cellules souches cérébrales, avec différenciation de neuroblastes (en vert)

aspects moléculaires et cellulaires des processus cérébraux. En effet, ce type de culture cellulaire permet d'obtenir des « mini-cerveaux » dont les avantages sont nombreux en permettant entre autre aux cellules d'être dans une situation beaucoup plus proche de la réalité que dans les cultures cellulaires classiques. Cela permet ainsi leur différenciation et maturation comme dans un cerveau réel. De plus, cette modélisation permet de réduire les approches in vivo et de réaliser des screening toxicologiques plus rapides.

Nos recherches visent à relier la nature des réponses biologiques observées aux cibles moléculaires et/ou cellulaires affectées par ces expositions toxiques, et ainsi à appréhender des mécanismes fondamentaux potentiellement impliqués dans la mise en place de pathologies. De ce fait, les processus de neuro-inflammation et d'inflammation pulmonaire (lorsque que cette voie d'exposition est impliquée) sont également analysés.

**Contact :** Valérie QUESNIAUX, Directrice de l'INEM, [quesniaux@cnsr-orleans.fr](mailto:quesniaux@cnsr-orleans.fr)  
Site web: <https://www.univ-orleans.fr/es/inem>

## EA4245 Transplantation, Immunologie et Inflammation (T2I), Université de Tours

L'EA4245 T2I (<https://ea4245.univ-tours.fr/>) est une équipe d'accueil de l'Université de Tours, localisée en faculté de Médecine, qui entretient des liens étroits avec le Centre Hospitalier



Universitaire (CHU) de Tours. Son projet de recherche est résolument tourné vers la physiopathologie puisqu'elle analyse les mécanismes impliqués dans l'aggravation des lésions tissulaires lors des phénomènes ischémiques et inflammatoires, afin de prévenir la perte de fonction de l'organe. Les membres de l'équipe étudient et comparent les phénomènes d'activation et de diffé-

renciation cellulaires induits par l'ischémie dans différents contextes physiopathologiques. L'équipe est pluridisciplinaire et associe des enseignants-chercheurs issus des facultés de Médecine, de Pharmacie et des Sciences et Techniques apportant leurs compétences en physiologie et électrophysiologie, cardiologie, néphrologie, immunologie, hépato-gastroentérologie, chirurgie, anatomopathologie et pharmacologie. L'EA4245 est actuellement constituée de 17 hospitalo-universitaires (dont 15 titulaires de l'Habilitation à Diriger les Recherches, HDR), 3 universitaires (dont 1 HDR), 1 chercheur international invité, 2 ingénieurs de recherche (1 Université et 1 CHU), 1 secrétaire-gestionnaire, 3 techniciennes de recherche (1 Université et 2 CHU), 3 chercheurs post-doctorants, 10 doctorants, 1 assistant-ingénieur sur contrat, 1 attachée de recherche clinique sur contrat. L'équipe est très investie dans la formation universitaire et accueille chaque année entre 15 et 20 stagiaires (master, licence, IUT, BTS, IFTLM...).



L'EA4245 T2I est membre du LabEx MablImprove et participe à la dynamique régionale de l'ARD Biomédicament. Elle est un acteur important de la Fédération Hospitalo-Universitaire (FHU) SUPPORT (SURvival oPtimization in ORgan Transplantation) Tours-Poitiers-Limoges dont les objectifs sont de combiner l'excellence en termes d'enseignement, de recherche et de soin pour optimiser la transplantation d'organe. Enfin, l'équipe participe au Groupe de Réflexion sur la recherche cardiovasculaire (GRCC) et à la création d'un Club national de recherche sur les récepteurs et la signalisation purinergiques.

Les projets de l'équipe bénéficient de nombreux financements académiques régionaux, nationaux et internationaux (Université de Tours, Région Centre-Val de Loire, C-Valo, Cancéropôle Grand-Ouest, ANR, INCa, DGOS PHRC, Campus France Programmes Hubert Curien, COST...), d'associations et fondations (Ligue Nationale contre le Cancer, Fondation pour la Recherche Médicale, Fédération Française de Cardiologie, Fondation de l'Avenir, Le Studium...) et industriels (MedTronic, AstraZeneca, ...).

### Une recherche translationnelle (« Bench to Bed, and Back ») et transversale (multi-organes)

Les membres de l'équipe développent collectivement une recherche translationnelle qui assure un transfert des connaissances issues de la recherche fondamentale vers une application clinique pour le patient avec l'identification de biomarqueurs pronostiques, la découverte et la validation de cibles thérapeutiques (« Bench to bed ») accessibles aux petites molécules pharmacologiques et aux anticorps thérapeutiques.

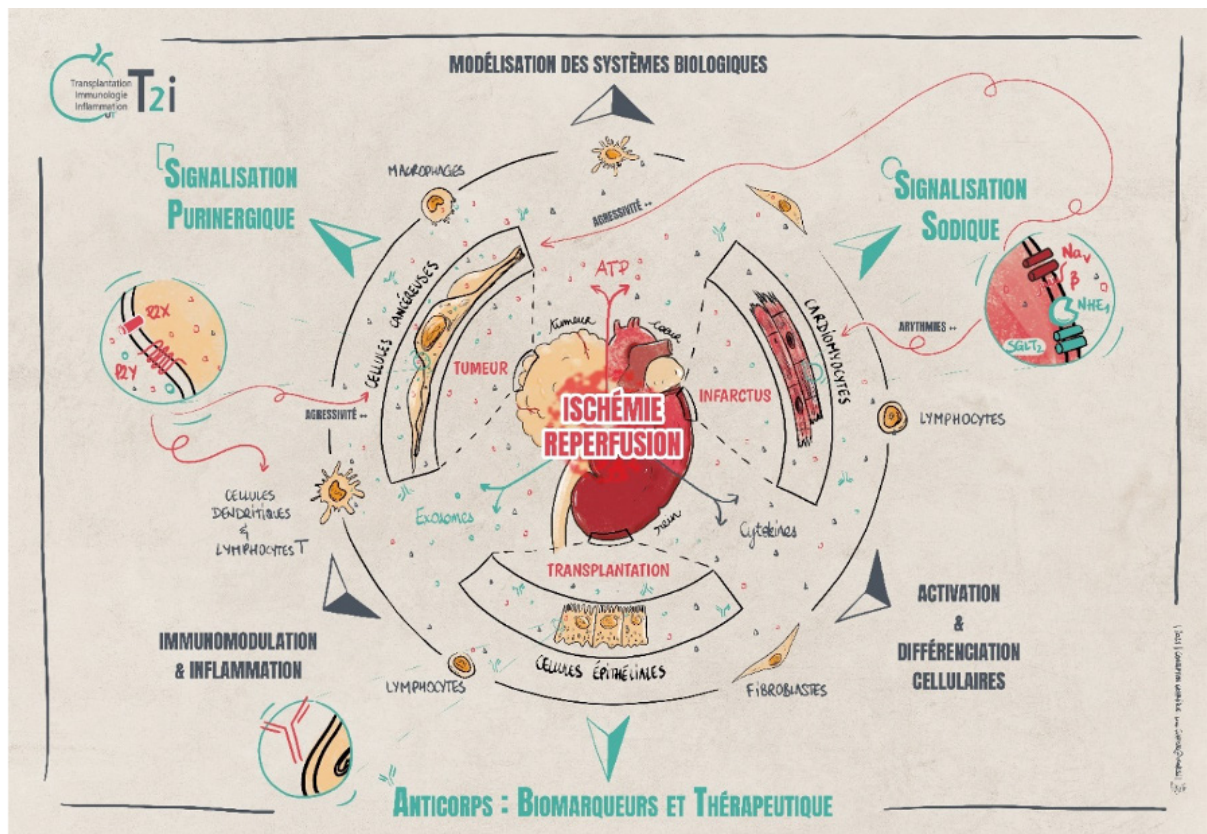
Cette recherche translationnelle est bidirectionnelle, et les données clinico-biologiques obtenues chez le patient, au cours de l'évolution de la maladie ou en réponse aux traitements, permettent de générer des hypothèses réorientant la recherche fondamentale (« Back »).

L'équipe mène une recherche biomédicale ayant pour objectif de prévenir les lésions tissulaires ischémiques et inflammatoires. L'isché-

mie est caractérisée par une diminution ou abolition de l'apport sanguin artériel dans un organe ou un tissu. Elle peut être aiguë ou intermittente. L'ischémie est responsable d'un stress métabolique sévère (hypoxie et privation nutritive) qui entraîne des lésions aiguës de l'organe (zones nécrotiques) et engendre également des remodelages tissulaires et dysfonctionnements persistants qui peuvent aboutir à une perte de fonction complète de l'organe et au décès du patient. Cette réponse est notamment induite par la libération de facteurs solubles qui représentent des signaux de danger, tels que l'alarmine ATP, des exosomes, des cytokines et auto-anticorps. Ces signaux induisent des phénomènes de transition et d'activation cellulaires, associés à une réponse inflammatoire stérile, puissante et persistante dans le temps. Cette réponse, dont l'amplitude semble varier

d'un individu à l'autre, est à l'origine de modifications majeures des tissus concernés et initie la progression de la maladie. Elle peut être caractérisée par la survenue d'une fibrose.

L'ischémie est une situation rencontrée dans différents contextes physiopathologiques, consécutivement à l'athérosclérose, des troubles métaboliques, un acte chirurgical ou le développement d'une tumeur cancéreuse. **L'équipe T2i étudie et modélise les bases communes de cette réponse multicellulaire à l'ischémie, tout particulièrement dans les contextes physiopathologiques de l'infarctus du myocarde, de la tumeur cancéreuse (cancer du sein et cancer colorectal) et de la transplantation d'organe (cœur, rein) (Figure 1).** Ces réponses sont également analysées en fonction du statut inflammatoire du patient (diabète, maladies inflammatoires chroniques, ...).



**Figure 1 : Représentation schématique des projets de recherche de l'EA4245 T2i.** Les trois axes de recherche sont interconnectés pour une meilleure étude des mécanismes d'actions impliqués dans les lésions tissulaires induits par l'ischémie et prévenir la perte de fonction de l'organe. Illustration réalisée par L. Clarysse, Com&Sci (<https://comsci.art>).

### Trois axes de recherche interconnectés

Les objectifs de l'équipe sont : (i) d'étudier les voies de signalisation cellulaires et moléculaires induites par l'ischémie dans les différentes populations cellulaires d'intérêt (cardiomyo-

cytes, cellules épithéliales, endothéliales, fibroblastes et cellules immunitaires) et de modéliser les interactions entre celles-ci, (ii) d'identifier des biomarqueurs prédictifs de la dysfonction

d'organe et (iii) de développer des stratégies et outils thérapeutiques pour la prévention des lésions tissulaires induites par l'ischémie.

L'équipe a identifié des cibles membranaires, **canaux ioniques, transporteurs et récepteurs**, comme étant des acteurs déterminants de la dysfonction d'organe (lésion tissulaire, arythmie, fibrose, rejet de greffe, progression cancéreuse) et de la réponse inflammatoire secondaires à l'ischémie. Les chercheurs de T21 étudient par conséquent le rôle de ces protéines membranaires dans les signalisations inter- et intra-cellulaires contrôlant les phénomènes de différenciation et d'activation cellulaire induits par l'ischémie, et leur valeur comme biomarqueurs prédictifs de la lésion tissulaire. L'équipe développe également de nouvelles stratégies thérapeutiques reposant sur l'utilisation de molécules chimiques (synthèse en collaboration avec des équipes nationales et internationales de chimistes et repositionnement de molécules existantes) et d'anticorps monoclonaux aux propriétés immuno-modulatrices. L'équipe possède une expertise dans l'identification et la valorisation d'anticorps monoclonaux humains, issus de clones cellulaires B de patients, pour une utilisation diagnostique et/ou thérapeutique (plateforme hospitalo-universitaire « B Cell Resources », BCR). Elle est également associée au Centre Pilote de suivi biologique des traitements par anticorps (CePiBAC), une plateforme du CHU dédiée à l'étude de l'effet des anticorps thérapeutiques chez l'Homme par des analyses de pharmacologie biologique dans le cadre de protocoles de recherche clinique (Phase I à IV). Grâce au soutien du CePiBAC, le Laboratoire de Biologie Médicale du CHU de Tours, a récemment été désigné par le Ministère des Solidarités et de la Santé comme laboratoire de biologie médicale de référence (LBMR) pour le « Suivi thérapeutique pharmacologique des anticorps monoclonaux », pour une durée de 5 ans (JO N°167 du 21 juillet 2021).

Les projets de recherche de l'EA4245 T21 sont articulés en 3 axes (*Figure 1*), qui bénéficient d'outils méthodologiques transversaux que sont les méta-analyses et la modélisation des systèmes biologiques :

- **Axe 1** : Signalisation purinergique dans l'activation et la différenciation cellulaires induites par l'ischémie

- **Axe 2** : signalisation sodique dans l'activation et la différenciation cellulaires induites par

l'ischémie

- **Axe 3** : Anticorps comme biomarqueurs et thérapeutique des pathologies ischémiques et inflammatoires

Au cours des 4 dernières années (période 2018-2021), l'équipe a **publié plus de 250 articles** dans des journaux internationaux à comité de lecture avec des facteurs d'impact (IF) qui suivent la répartition suivante : 55% des articles avec IF > 3, 20% avec IF > 5 et 6% avec IF > 8. L'équipe a également rapporté plus de 2600 points SIGAPS (Système d'interrogation de gestion, d'analyse des publications scientifiques de l'hôpital).

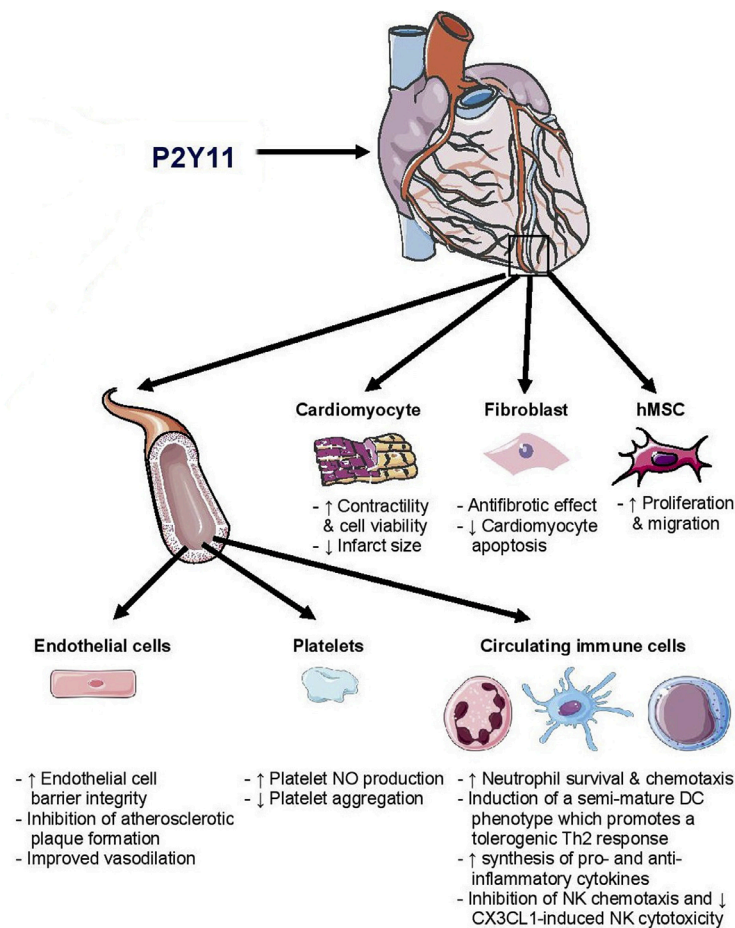
Il n'est pas possible de mentionner ici l'ensemble des résultats obtenus par l'équipe. Cependant, quelques faits marquants permettent de les illustrer.

### Axe 1 : Signalisation purinergique

L'Adénosine 5'-triphosphate (ATP) est la molécule intracellulaire source d'énergie pour les fonctions cellulaires. Elle est aussi une molécule de signalisation lorsqu'elle est relarguée dans le milieu extracellulaire activant alors des récepteurs membranaires, appelés récepteurs purinergiques. Ces récepteurs sont de deux types : récepteurs métabotropiques P2Y (couplés aux protéines G) et récepteurs ionotropiques P2X (récepteurs canaux perméables aux cations Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> et K<sup>+</sup>). L'ATP, généralement indétectable dans le compartiment extracellulaire en condition physiologique, peut être libérée en concentrations variables par les cellules lors de situations de stress métabolique ou mécanique. Elle est libérée massivement par les cellules nécrotiques. Dans ce cas, l'ATP est considérée comme une alarmine, elle entraîne l'activation ou la différenciation des différents types cellulaires environnants et agit en puissant modulateur de la réponse inflammatoire. L'équipe s'intéresse tout particulièrement aux trois types de récepteurs P2Y11, P2X4 et P2X7 dont l'expression et l'activation ont des rôles critiques dans le remodelage tissulaire et la modulation de l'inflammation consécutivement à l'ischémie. Nous présentons ici quelques-uns de nos travaux sur le récepteur P2Y11.

Au cours des dernières années, l'équipe a démontré le rôle déterminant du récepteur P2Y11 dans la modulation des réponses immuno-inflammatoires impliquées dans les lésions d'ischémie-reperfusion myocardiques (Danila





**Figure 2 : Effet bénéfiques de la stimulation du récepteur P2Y11 sur les différents types cellulaires cardiaques (cardiomyocytes, cardiofibroblastes, cellules souches mésenchymateuses hMSC, cellules endothéliales, plaquettes et cellules immunitaires) pour réduire les lésions consécutives à l'ischémie-reperfusion. Figure modifiée d'après Danila et al., European Journal of Pharmacology 876 (2020) 173060.**

et al., 2020). Nous avons initialement mis en évidence que ce récepteur module la maturation des cellules dendritiques en réponse à l'ATP extracellulaire. En effet, l'activation du récepteur P2Y11 dans les cellules dendritiques réduit les réponses inflammatoires. Cependant, ce récepteur est réprimé au cours des épisodes ischémiques, ce qui entraîne la persistance d'une inflammation stérile. Le maintien de son niveau d'activité, par l'utilisation d'outils pharmacologiques, lance de nouvelles perspectives pour atténuer l'inflammation dommageable associée à l'infarctus du myocarde (Chadet et al., 2015). Nous avons par la suite démontré que l'activation pharmacologique de P2Y11 réduit l'étendue des lésions myocardiques d'ischémie-reperfusion, retarde le rejet aigu et améliore la viabilité des greffons dans un modèle murin de transplantation cardiaque allogénique et hétérotopique (Bourguignon et al., 2019). Sur le plan mécanistique, nous avons montré que

la stimulation du récepteur P2Y11 dans les cardiomyocytes atténue les effets délétères de la production mitochondriale d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces effets sont dus à l'activation de la voie de signalisation dépendante de la PKCε (Benoist et al., 2019).

Les fibroblastes sont des acteurs importants de la fonction cardiaque. Lors des épisodes d'ischémie-reperfusion, les fibroblastes cardiaques sont impliqués dans la génération d'une fibrose myocardique qui entraîne des troubles de la conduction électrique, de la contraction cardiaque et qui favorise la transition vers l'insuffisance cardiaque. Nous avons étudié les interactions paracrines entre les cardiomyocytes, les fibroblastes cardiaques et cellules dendritiques. Nos résultats montrent que l'activation de P2Y11 dans les fibroblastes cardiaques humains réduit leur prolifération, leur différenciation en myofibroblastes, leur sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IFN-γ, TNF-α) et d'ATP après hypoxie-réoxygénation. Ceci induit la maturation des cellules dendritiques vers un profil pro-toléro-gène et maintient une protection anti-apoptotique des cardiomyocytes via

l'activation de la voie de signalisation RISK (Lefort et al., 2018). Le rôle de P2Y11 a également été étudié sur la composante vasculaire, dans deux modèles de stress vasculaire. Nous avons montré que la stimulation pharmacologique de P2Y11 module l'activité des facteurs vasoactifs eNOS (endothelial nitric oxide synthase) et l'endothéline-1 dans les cellules endothéliales humaines, réduit la prolifération des cellules musculaires lisses et prévient leur conversion vers un phénotype synthétique (Piollet et al., 2021). Dans un modèle murin d'inflammation systémique aiguë et de dysfonction vasculaire induit par le LPS, l'agoniste de P2Y11 restaure la fonction vasomotrice basale dépendante de l'endothélium (Danila et al., 2017).

En conclusion, l'activation de P2Y11 semble présenter un important bénéfice pour prévenir les lésions d'ischémie-reperfusion par un effet anti-inflammatoire et une protection locale,

directement sur les cardiomyocytes en activant une voie de survie, et indirectement sur les fibroblastes cardiaques et le système vasculaire en réduisant respectivement la fibrose et en préservant l'activité vasomotrice (**Figure 2**).

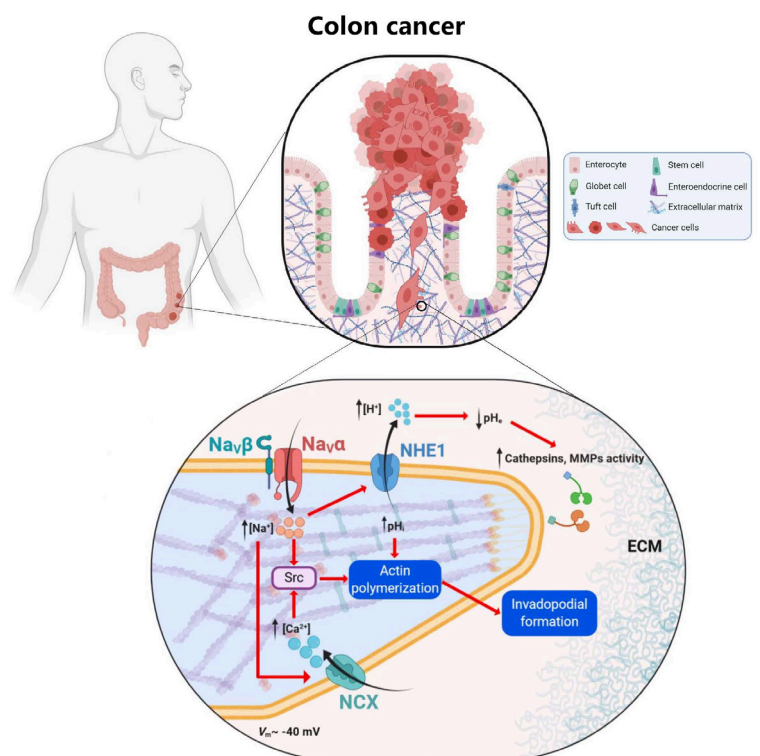
### Axe 2 : Signalisation Sodique

Dans cet axe de recherche nous nous intéressons principalement à l'implication des canaux sodiques dépendants du voltage (NaV), échangeurs  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  (NHE) et cotransporteurs  $\text{Na}^+\text{-Glucose}$  (SGLT2) dans les lésions induites par l'hypoxie ou l'ischémie. Nous présentons ici nos travaux sur les canaux sodiques NaV.

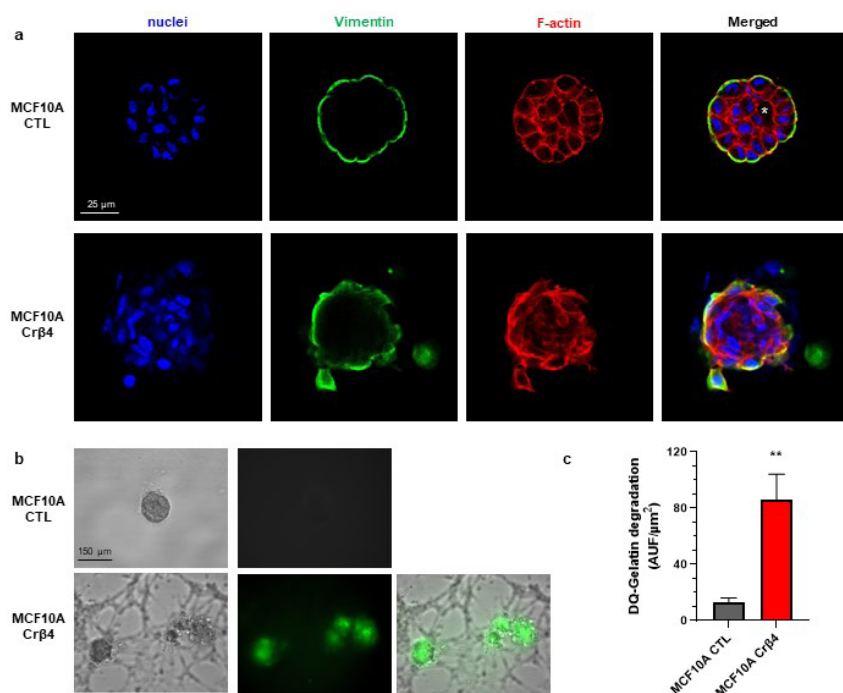
L'hypoxie et les phases intermittentes d'ischémie sont des facteurs environnementaux déterminant dans la progression agressive des tumeurs solides. Celles-ci peuvent être causées dans certaines zones tumorales à distance des vaisseaux ou consécutivement à la compression vasculaire induite par la tumeur elle-même. Il s'en suit alors la génération de zones nécrotiques mais aussi malheureusement la sélection de clones cellulaires agressifs adaptés à ces contraintes métaboliques. Ces clones cellulaires ont notamment la capacité de produire de l'énergie en condition anaérobie en favorisant le métabolisme glycolytique (effet Warburg) et/ou en recyclant des composants structuraux ou organites par autophagie (Ferro et al., 2020, Dumas et al., 2017). Ce stress métabolique engendre la libération de cytokines (telles que le  $\text{TGF-}\beta$ ) qui conjointement induisent des adaptations phénotypiques et fonctionnelles chez les cellules cancéreuses caractérisées par la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), une modulation des pH intra et extracellulaires, le remodelage de la matrice extracellulaire et l'acquisition de propriétés invasives.

Nous avons montré que les canaux sodiques NaV, initialement caractérisés dans les cellules excitables, sont anormalement exprimés dans les cellules cancéreuses (**Figure 3**) dans lesquelles ils supportent la préférence métabolique pour le glucose (effet Warburg) en régulant l'activité de l'échangeur NHE1, augmentent l'activité Src Kinase et stimulent l'invasivité cancéreuse et le développement

métastatique (Lopez-Charcas et al., 2021). Ils sont alors proposés comme cibles pharmacologiques pour des traitements anticancéreux et, en collaboration avec des collègues chimistes de l'Université d'Alabama à Birmingham (AL, USA), nous développons de nouvelles petites molécules inhibitrices (Dutta et al., 2018). Spécifiquement, nous avons montré que l'isoforme NaV1.5, connue pour être la principale isoforme cardiaque responsable des arythmies cardiaques post-infarctus ou dans les cardiopathies ischémiques chroniques (Plant et al., 2020, Kang et al., 2020), est anormalement exprimée dans les cellules cancéreuses mammaires (Brisson et al., 2013, Brisson et al., 2011, Gradek et al., 2019) et coliques (Poisson et al., 2020). Son activité est associée à une augmentation des propriétés invasives et à la dégradation de la matrice extracellulaire. Nous avons récemment démontré que la réduction de son expression, ou de son activité, dans des cellules cancéreuses mammaires très agressives est capable de réduire l'expression du facteur de transcription SNAI1, de reverser le phénotype mésenchymateux et d'inhiber l'invasivité cancéreuse. À l'inverse, la surexpression expé-



**Figure 3 : Expression des canaux sodiques NaV dans les tumeurs solides** (ici est représentée une tumeur colique). La progression cancéreuse, induite par l'hypoxie ou l'ischémie, fait intervenir l'acquisition de propriétés invasives. Les canaux sodiques NaV, en stimulant l'activité Src Kinase et celle de l'échangeur NHE1 dans les cellules cancéreuses, favorisent la formation de structures invasives (invadopodes) et la dégradation protéolytique de la matrice extracellulaire. Figure modifiée d'après Lopez-Charcas et al., *iScience*, 24 (2021) 102270.



**Figure 4 : Effet de la perte d'expression de NaVβ4 sur la morphologie épithéliale et l'activité protéolytique de cellules épithéliales mammaires non cancéreuses MCF10A cultivées en 3 dimensions dans une matrice extracellulaire (Geltrex®).** (a) La perte d'expression de NaVβ4 au moyen de la technologie Crispr/Cas9 (Crβ4) entraîne une désorganisation complète des structures épithéliales organisées en 3 dimensions par rapport à la condition témoin (CTL). (b et c) Elle s'accompagne également d'une augmentation de l'activité de dégradation de la matrice extracellulaire, identifiée par la dégradation de la DQ-gélatine et l'émission de fluorescence verte. Figure modifiée d'après Doray et al., *Cells*, 10 (2021), 1624.

rimentrale de NaV1.5 dans des cellules cancéreuses faiblement agressives induit l'expression des facteurs SNA1 et ZEB1 promouvant la TEM et l'invasivité. De plus, la stimulation des cellules avec le TGF-β1 augmente l'expression du gène SCN5A codant pour NaV1.5. Enfin, la réduction de l'expression de la kinase SIK1 (salt-inducible kinase 1) induit l'expression de SNA1 et l'invasivité dépendante de NaV1.5 (Gradek et al., 2019). Collectivement, ces résultats indiquent un rôle déterminant de NaV1.5 et SIK1 dans une voie de signalisation dépendante du sodium qui induit l'EMT et l'invasivité cancéreuse.

L'activité des canaux NaV est modulée par des sous-unités auxiliaires appelées NaVβ. Notamment la sous-unité NaVβ4 est connue pour moduler l'activité du canal NaV1.5 dans le cœur (Medeiros-Domingo et al., 2007). Nous avons précédemment montré que NaVβ4 est fortement exprimée dans les tissus mammaires et coliques sains, mais très faiblement, voire absente dans les tissus cancéreux (Bon et al., 2016). La réduction d'expression de NaVβ4 dans les cellules cancéreuses potentialise leur migration et invasivité en promouvant l'acquisition d'un

phénotype cellulaire hybride amiboïde-mésenchymateux. Ceci favorise la croissance tumorale primaire et le développement métastatique (Bon et al., 2016). Plus récemment, nous avons montré que la perte d'expression de NaVβ4 dans des cellules épithéliales mammaires non cancéreuses induit une perte de polarité épithéliale et augmente l'activité protéolytique à l'encontre de la matrice extracellulaire (Figure 4).

La perte de morphologie épithéliale est associée à une augmentation de la dégradation de β-caténine et à l'induction de la TEM (Doray et al., 2021). Ces résultats suggèrent que la sous-unité NaVβ4 participe au maintien de la morphologie et de la fonction épithéliales et pourrait représenter un suppresseur de tumeur.

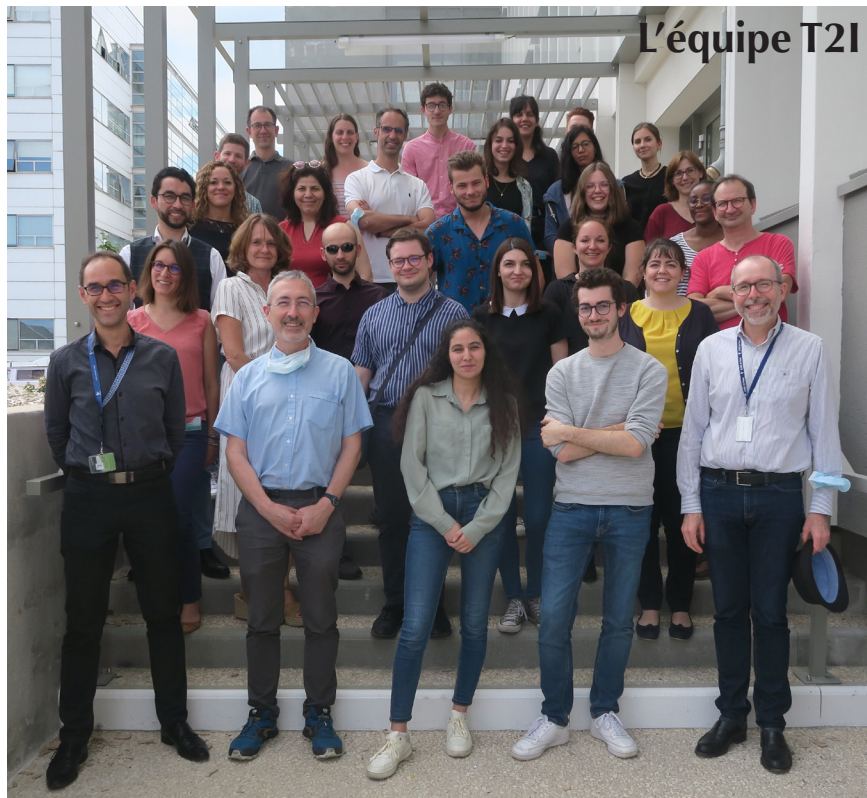
### Axe 3 : Anticorps comme biomarqueurs et thérapeutiques

Notre équipe réalise un suivi biologique du traitement des pathologies ischémiques et inflammatoires (cardiaques, rénales, cancéreuses) par les anticorps thérapeutiques afin d'étudier leurs mécanismes d'action in vivo et chez l'Homme (Ngo Ntjam et al., 2021, Petitcollin et al., 2021, Bensalem et al., 2020, Bensalem and Ternant, 2020). Nous nous intéressons particulièrement aux sources de la variabilité inter-individuelle de l'effet des anticorps thérapeutiques et notamment à l'influence de l'activité de la maladie traitée.

Chez l'Homme également, nous identifions et sélectionnons des clones cellulaires B pour la production d'anticorps monoclonaux humains spécifiques produits dans des pathologies inflammatoires et ischémiques. Ces anticorps sont alors caractérisés, leur fonction est étudiée, afin de les valoriser pour des applications comme biomarqueurs ou comme outils thérapeutiques.

Un exemple illustratif est celui du projet de

valorisation de l'anticorps monoclonal anti-Protéinase 3 (4C3) produit dans le cas de la Granulomatose avec polyangéite (GPA, aussi appelée maladie de Wegener). Ce travail a été réalisé en collaboration avec le groupe de B. Korkmaz de l'Inserm UMR1100 CEPR. La GPA est une maladie auto-immune rare caractérisée par une inflammation des petits vaisseaux et la présence d'anticorps anti-protéines cytoplasmiques des neutrophiles (ANCA). Il a notamment été montré la production d'un anticorps dirigé contre la protéinase 3 (PR3), une protéase à sérine des granules du neutrophile, aussi retrouvée à sa surface. Nous avons pu sélectionner un anticorps monoclonal anti-PR3 (4C3) à partir d'un patient en phase de rémission. Cet anticorps 4C3 reconnaît spécifiquement la PR3 avec une haute affinité ( $K_d = 7.4 \cdot 10^{-10}$  M) sur un épitope proche de la poche hydrophobe et bouche le site actif de l'enzyme. 4C3 est capable de reconnaître la forme membranaire de l'enzyme.



L'équipe T21

Il n'entraîne pas d'activation du neutrophile *in vitro* et neutralise la production de ROS induite par des IgG GPA.

Nos résultats indiquent que 4C3 pourrait représenter un biomarqueur utile autant qu'un potentiel outil thérapeutique (Granel et al., 2021, Granel et al., 2020) et une demande de brevet a été déposée (n° dépôt INPI FR1911722 et demande internationale PCT/EP2020/079208).

### Bibliographie

- Benoist et al., 2019, *Sci Rep*, 9, 11613.  
 Bensalem et al., 2020, *Clin Pharmacokinet*, 59, 519-530.  
 Bensalem & Ternant, 2020, *Clin Pharmacokinet*, 59, 857-874.  
 Bon et al., 2016, *Nat Commun*, 7, 13648.  
 Bourignon et al., 2019, *J Thorac Cardiovasc Surg*, 158, 780-790 e1.  
 Brisson et al., 2013, *J Cell Sci*, 126, 4835-42.  
 Brisson et al., 2011, *Oncogene*, 30, 2070-6.  
 Chadet et al., 2015, *Cells. J Immunol*, 195, 651-60.  
 Danila et al., 2020, *Eur J Pharmacol*, 876, 173060.  
 Danila et al., 2017, *Mol Cell Biochem*, 431, 37-44.  
 Doray et al., 2021, *Cells*, 10.  
 Dumas et al., 2017, *Semin Cancer Biol*, 43, 90-110.  
 Dutta et al., 2018, *Bioorg Med Chem*, 26, 2428-2436.  
 Ferro et al., 2020, *Semin Cell Dev Biol*, 98, 129-138.  
 Gradek et al., 2019, *Sci Rep*, 9, 18652.  
 Granel et al., 2021, *Front Immunol*, 12, 571933.  
 Granel et al., 2020, *Front Immunol*, 11, 573040.  
 Kang et al., 2020, *JCI Insight*, 5.  
 Lefort et al., 2018, *J Mol Cell Cardiol*, 121, 212-222.  
 Lopez-Charcas et al., 2021, *iScience*, 24, 102270.  
 Medeiros-domingo et al., 2007, *Circulation*, 116, 134-42.  
 Ngo Ntjam et al., 2021, *JAMA Ophthalmol*.  
 Petitcollin et al., 2021, *Eur J Clin Pharmacol*.  
 Piollet et al., 2021, *Int J Mol Sci*, 22.  
 Plant et al., 2020, *Cell Rep*, 30, 2225-2236 e4.  
 Poisson et al., 2020, *Sci Rep*, 10, 13350.

**Contact : Sébastien ROGER**, Directeur de T21,  
 Faculté de Médecine, 10 boulevard Tonnellé ; 37032 Tours Cedex (France)  
[sebastien.roger@univ-tours.fr](mailto:sebastien.roger@univ-tours.fr) ; [seccdg@univ-tours.fr](mailto:seccdg@univ-tours.fr) ; <https://ea4245.univ-tours.fr>

## Un robot extracteur epMotion® à l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI)

Par Stéphane Boyer, Annie Bézier, Franck Dedeine, Simon Dupont, Élisabeth Herniou, Élisabeth Huguet, Carlos Lopez-Vaamonde, Lucas Sire & David Giron.

### 1.

#### Un automate plus rapide et plus sûr



Le robot extracteur epMotion® 5075 permet d'automatiser l'extraction d'acides nucléiques à haut débit, soit jusqu'à 96 échantillons dans la configuration choisie. Grâce à cet outil, il est possible d'extraire l'ADN d'un grand nombre d'échantillons en un temps record. Cette extraction, qui constitue une étape primordiale pour les analyses moléculaires, se fait traditionnellement à l'aide de kits mettant en jeu différentes étapes de purification par filtration par centrifugations. Cependant cette méthode devient vite laborieuse et chronophage dès lors qu'un grand nombre d'échantillons doit être traité. Par ailleurs, la réalisation manuelle de ces différentes étapes peut être source de problèmes de répétabilité et d'éventuelles contaminations entre échantillons.

Une des méthodes d'extraction possible sur notre robot epMotion® est basée sur l'utilisation de billes magnétiques microscopiques qui permettent de capturer les molécules d'ADN afin de les séparer des autres composés cellulaires. L'utilisation du robot représente non seulement un gain de temps considérable pour l'opérateur mais elle permet aussi de limiter les problèmes de répétabilité et de contamination précédemment évoqués puisque les séquences de déplacements du robot sont programmées

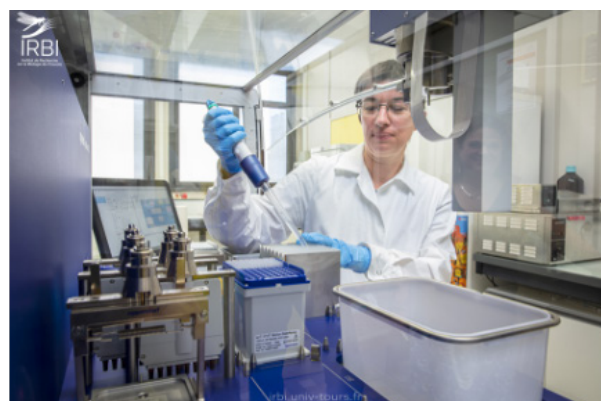
au millimètre près et enregistrées pour pouvoir être répétées à l'identique. L'extraction par billes magnétiques est adaptée à une large gamme d'échantillons ADN et ARN. Elle est particulièrement efficace pour l'extraction d'échantillons contenant de l'ADN dégradé ou en très faible quantité. C'est le cas notamment de l'ADN environnemental qui peut être défini comme l'ADN ne provenant pas directement d'un organisme. Ainsi des échantillons de sol, d'eau ou de fèces, mais aussi d'exuvies ou de momies d'insectes parasités par exemple, constituent des échantillons d'ADN environnemental. Ces échantillons contiennent la plupart du temps des traces ADN appartenant à plusieurs espèces. Leur analyse permet de décrypter notamment les interactions fines qui existent entre insectes, plantes et micro-organismes telles que nous nous y intéressons à l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte.

Le dispositif epMotion® est un atout essentiel de la plateforme de génomique environnementale de l'IRBI. Grâce à l'acquisition de cette machine sur un financement CPER (projet BIOPATIC), il est désormais possible d'envisager la préparation en masse d'échantillons pour du séquençage à haut débit. Les données génomiques obtenues sont ensuite analysées grâce au cluster de calcul BIOPATIC dédié à l'analyse bio-informatique de ce type de données.



Robot extracteur EpMotion 5075 à l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte

© A. Bézier / IRBI - CNRS / Université de Tours



© D. Darrault / IRBI - CNRS / Université de Tours

## 2. Les applications

### a. Études des communautés écologiques d'insectes en milieux forestiers

L'écologie des communautés permet de comprendre comment les milieux naturels fonctionnent et répondent à différents stress environnementaux tels que la sécheresse ou l'urbanisation. Dans ce cadre nous nous intéressons aux insectes car ils forment une part importante de la biodiversité, tant par leur nombre que par leurs rôles majeurs dans les écosystèmes.

Un des défis majeurs lié à l'étude des communautés d'insectes dans un environnement donné est l'identification morphologique de chaque individu capturé, étape coûteuse en temps et nécessitant le concours de plusieurs experts en taxonomie qui sont souvent spécialisés au niveau d'une seule famille d'insectes. Le problème est que les études écologiques recouvrent souvent beaucoup de familles d'insectes pour lesquelles on ne trouve plus d'expert taxonomiste, même en Europe. C'est particulièrement le cas dès lors que l'on s'intéresse aux insectes les plus petits. Pour contourner ce verrou taxonomique, plusieurs techniques ont été développées dont les codes-barres ADN (ou DNA barcoding). Le principe est d'utiliser un court fragment standard du génome et de le comparer à d'autres séquences identifiées au sein de bibliothèques de références. Ainsi, ces bases de données de codes-barres ADN représentent un système global d'identification moléculaire. Grâce à sa grande capacité de traitement d'échantillons, le robot extracteur nous permet d'extraire l'ADN d'un très grand nombre de spécimens de manière individuelle. Par ailleurs, une communauté complète peut aussi être inventoriée à partir d'un seul et même échantillon environnemental (technique de méta-code-barres ADN). Plusieurs

projets de biodiversité en milieux forestiers ont de fait pu bénéficier de cet outil au sein de l'IRBI. Il a entre autres été possible de mieux appréhender les conséquences du dépérissement forestier lié



**Micro lépidoptère** (*Caloptilia cecidophora*) et **micro guêpe** (*Diaretiella rapae*)  
© Antoine Guiguet / IRBI – CNRS / Université de Tours  
© M. Goutier / IRBI – CNRS / Université de Tours

aux changements climatiques dans les sapinières pyrénéennes sur près de 3000 espèces d'insectes (projet CLIMTREE). Actuellement, l'IRBI tente aussi de percer les mystères entourant les cavités d'arbres (projet CANOPEE). Ces milieux, souvent difficiles d'accès, sont en effet l'habitat de nombreuses espèces relativement rares et souvent protégées, majoritairement retrouvées à l'état larvaire et donc encore plus difficilement identifiables. Après extraction de l'ADN de l'humus contenu dans ces cavités grâce à notre robot, l'analyse par méta-code-barres ADN permettra à la fois d'établir une base de données de référence ADN pour l'identification d'espèces cavicoles mais aussi d'étayer nos connaissances sur les communautés associées, affinant à terme notre compréhension de ces micro-habitats singuliers et essentiels à la richesse des environnements forestiers.

### b. Les réseaux trophiques en milieu agricole

Les services de régulation tels que la pollinisation animale et la lutte biologique par les prédateurs ou les parasitoïdes ont le potentiel de maintenir ou d'augmenter la production végétale dans les agroécosystèmes tout en réduisant les besoins en pesticides et autres intrants chimiques. Ces services de régulation sont basés non seulement sur des espèces clés, mais aussi sur leurs interactions trophiques. Cependant, dans les grandes cultures comme le blé ou le colza, les réseaux d'interac-

tions se font et se défont chaque année. Il est donc essentiel de comprendre la dynamique de mise en place de ces réseaux et de déterminer les facteurs explicatifs de l'efficacité des régulateurs naturels (projet IMaGHO et projet CAMPOVIGNE) pour maximiser les services de régulation dans les agroécosystèmes.

Afin d'obtenir une vision globale du rôle des prédateurs généralistes, nous appliquons là aussi la méthode des méta-code-barres ADN pour ana-



**Bourdon des Champs (*Bombus pascuorum*) sur fleur et parcelle de vigne (Domaine Joguet, Beaumont-en-Véron)**

© C. Lopez-Vaamonde / IRBI – CNRS / Université de Tours    © E. Huguet / IRBI – CNRS / Université de Tours

lyser les contenus stomacaux de plusieurs milliers de coléoptères prédateurs collectés tout au long de la saison de croissance des cultures. L'efficacité de ces prédateurs peut alors être expliquée par des variables liées aux conditions environnementales, aux pratiques agricoles ou à l'histoire de chaque parcelle ; autant de leviers qui pourront ensuite être utilisés afin d'optimiser le service de régulation des ravageurs. Dans le cadre du projet CAMPOVIGNE, nous cherchons à déterminer le niveau de parasitisme naturel de la tordeuse de la vigne, un ravageur important du vignoble qui endommage le raisin. Les chenilles sont collectées dans le vignoble et à proximité dans le milieu naturel. Grâce à l'epMotion® il est possible d'extraire l'ADN d'une centaine de chenilles à la fois. Ces extraits sont ensuite analysés pour détecter la présence d'ADN de guêpes, permettant ainsi de calculer le taux de parasitisme des chenilles et d'identifier les guêpes parasitoïdes qui jouent un rôle primordial dans le contrôle de ce ravageur. Pour ce qui concerne le service de pollinisation, nous nous intéressons aux abeilles sauvages qui forment un groupe très diversifié (près de 1000 espèces en France). Plusieurs cen-

taines d'abeilles sauvages sont collectées en période de floraison des cultures mais aussi après la floraison afin d'identifier les ressources florales utilisées par ces insectes. Ces abeilles sont lavées individuellement afin d'isoler les grains de pollen qu'elles portent sur le corps et d'identifier toutes les espèces de fleurs qu'elles ont visitées. Nous cherchons à déterminer entre autre, quelles sont les plantes adventices qui permettent aux abeilles sauvages de se nourrir en dehors des périodes de floraison des cultures, ou encore comment la présence d'abeilles domestiques affecte l'utilisation des ressources par les abeilles sauvages. Grâce à notre robot epMotion®, nous sommes capables de multiplier le nombre d'échantillons analysés ce qui permet de suivre la dynamique sur des échelles allant de quinze jours à plusieurs saisons de croissance des cultures. Une telle résolution temporelle est ici primordiale car elle permet d'atteindre un niveau très fin dans l'analyse moléculaire des interactions trophiques et de détecter des variations saisonnières liées à la phénologie des cultures ou à la compétition entre espèces prédatrices ou entre pollinisateurs.

### C. Bioconversion et microbiote intestinal chez les insectes

L'association symbiotique avec des microorganismes a permis à de nombreux insectes d'exploiter des ressources alimentaires particulièrement pauvres et/ou difficiles à dégrader. Grâce au métabolisme particulier de leurs symbiotes, certains groupes d'insectes se sont ainsi adaptés à une nourriture spécifique comme le sang de vertébrés, le phloème de plantes ou encore les polysaccharides du bois (cellulose, hémicellulose). Au-delà de leurs intérêts pour la recherche fondamentale, ces 'symbioses nutritionnelles' suscitent un intérêt grandissant dans divers domaines, et notamment dans certains secteurs de la bio-industrie (biodé-

gradation, bioconversion). L'IRBI mène en particulier deux projets sur les interactions hôte-microbiote dans un contexte de bioconversion, l'un sur la mouche soldat (projet MIMOSA), l'autre sur les termites xylophages (projet INFOBIOS). Ces projets nécessitent l'analyse du microbiote d'un grand nombre d'individus, ce qui est possible grâce à l'utilisation de notre robot.

La mouche soldat est une espèce d'intérêt pour le recyclage des coproduits alimentaires car ses larves sont capables d'exploiter une large gamme de ressources. Ces insectes peuvent se nourrir de déchets organiques ménagers (des mouches sol-



**Mouche soldat (*Hermetia illucens*) et termites sous terrain (*Reticulitermes grassei*)**  
 © E. Sansault / ANEPE Caudalis / IRBI – CNRS / Université de Tours  
 © T. Andrieux / IRBI – CNRS / Université de Tours

datés sont par exemple présentes dans les composteurs des particuliers) mais aussi de gisements issus de l'agriculture ou des coproduits de l'industrie agro-alimentaire. Par ailleurs, les larves produites à partir de ces déchets, peuvent être valorisées dans l'alimentation animale, notamment sous forme de farine à destination des élevages de poissons ou de volailles. Cette double compétence fait de la mouche soldat un modèle de choix pour la production d'insectes à l'échelle industrielle. La pérennité des élevages de mouches soldats et les capacités de bioconversion de ces insectes sont sous l'influence de leur microbiote intestinal dont l'étude constituent donc une thématique de recherche majeure pour les unités de production de mouches soldats. L'analyse du microbiote permet de cartographier de façon précise les communautés microbiennes présentes chez différentes lignées de mouches mais aussi de détecter des mar-

queurs spécifiques de l'efficacité de certaines lignées à dégrader des gisements particuliers. Ces études visent également à comprendre les mécanismes de transmission de ce microbiote afin d'améliorer les protocoles d'élevages, y compris pour éviter la transmission de maladies parmi les mouches qui nuiraient à la production ou de pathogènes humains qui pourraient compromettre la qualité des produits finis. La spécialisation des lignées pour certains gisements et la maîtrise de la transmission du microbiote seront des éléments clés dans la structuration de la filière d'entomoculture de la mouche soldat.

Les termites sont des insectes sociaux xylophages qui dégradent la cellulose du bois avec une efficacité inégalée dans le monde vivant. Un tel régime alimentaire repose sur une communauté microbienne complexe dans l'intestin postérieur de ces insectes. Les protistes flagellés en particulier participent activement à la dégradation de la cellulose. De plus, ces protistes hébergent eux-mêmes des procaryotes symbiotiques (bactéries, archées), lesquels expriment d'autres fonctions essentielles dans la nutrition des termites (fixation de l'azote, synthèse d'acides aminés, acétogénèse). Les recherches actuellement menées à l'IRBI visent à étudier d'une part les variations de la composition des communautés microbiennes, notamment en fonction du type de substrat cellulosique ingéré par les termites, et d'autre part à analyser les modes d'acquisition des symbiotes au cours des générations des termites dans les populations naturelles. De fait, nous tentons de déterminer si les colonies acquièrent leurs symbiotes de manière verticale, par le couple fondateur des colonies (roi et reine), ou de manière horizontale en 'collectant' leurs symbiotes progressivement dans l'environnement.

**Contact : Stéphane BOYER**  
 Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI)  
 UMR 7261 CNRS / Université de Tours  
 Parc Grandmont, Avenue Monge, 37200 Tours, FRANCE  
 Email : [stephane.boyer@univ-tours.fr](mailto:stephane.boyer@univ-tours.fr)  
 Tél : +33 2 47 36 74 55





# Plateforme d'écologie physique de l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI)

Par Jérôme Casas, Thomas Steinmann & David Giron.

## 1.

### Une plateforme unique en France

Le plateau d'écologie physique de l'IRBI est un ensemble d'instruments appliqués à l'étude des mécanismes physiques de la vie des insectes dans le contexte de la dynamique des fluides. Assez couramment utilisé dans des instituts de mécanique des fluides, c'est l'application à des problématiques écologiques de la vie des insectes qui rend cet appareillage unique en France. Ces appareillages permettent une description fine et précise des processus de dynamique des fluides et de mécaniques des solides se déroulant à l'échelle très particulière de la vie des insectes. Nos instruments sont dédiés aussi bien à la compréhension du fonctionnement de leurs organes sensoriels qu'à la caractérisation des forces impliquées dans leur locomotion. Les applications, industrielles, militaires ou civiles, sont nombreuses et entrent dans le champ du biomimétisme.

Cette plateforme d'écologie physique est composée de plusieurs systèmes de vélocimétrie par imagerie de particules (PIV), d'un système d'ané-

mométrie laser doppler (LDA), de systèmes d'anémométrie fil chaud (HWA), d'un système de vibrométrie doppler laser (LDV) et de caméras hautes vitesses. Nous avons récemment acquis un système de vélocimétrie par imagerie de particules tomographique (tomoPIV) grâce à des fonds CPER (BIOPATIC). C'est un appareillage de mesure d'écoulements tridimensionnels par reconstruction tomographique. Cette technique de mesure volumétrique consiste à filmer, à l'aide de plusieurs caméras rapides, des particules ensemençant un écoulement. Ces particules sont éclairées par un laser très puissant. Après la reconstruction du volume de particules cette méthode nous permet de capturer des structures de flux complexes.



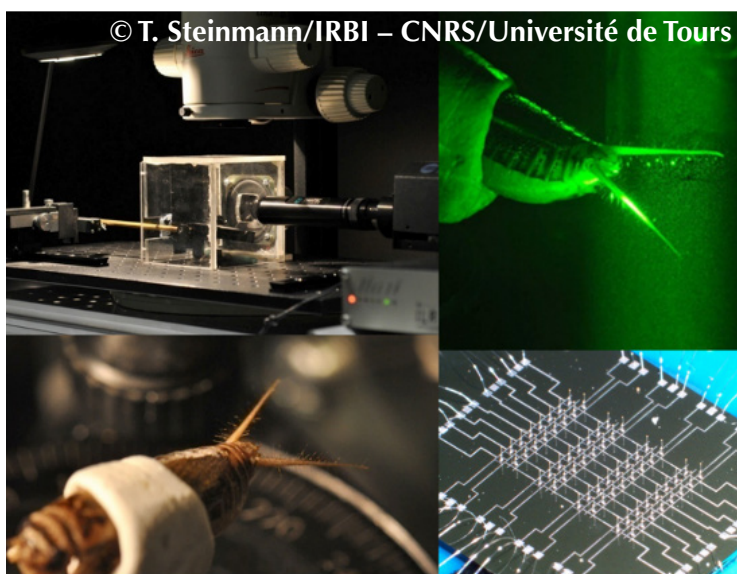
## 2.

### Les applications

#### a. Les poils mécano-sensoriels des grillons

Les grillons détectent les courants d'air générés notamment lors de l'attaque de leurs prédateurs à l'aide de deux organes appelés « cerques », situés à l'arrière de leur abdomen

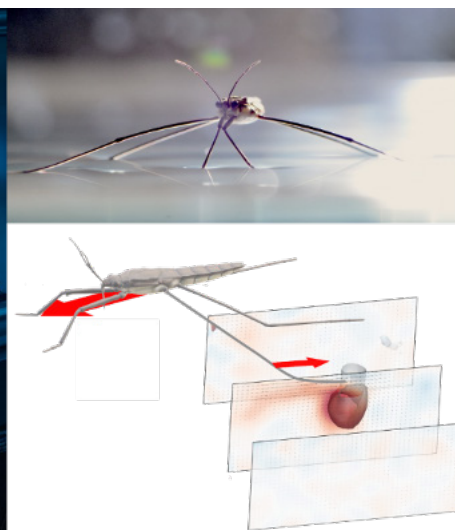
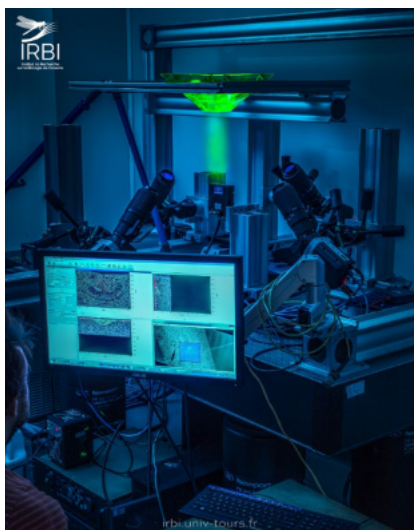
et recouverts de poils mécano-sensoriels. Nous avons étudié le fonctionnement de ces poils sensoriels de grillons en adaptant des méthodes de mesures non intrusives de très grande précision tel que la Vélocimétrie par Imagerie de Particules (PIV). La couche limite oscillante dans laquelle évolue les poils a été visualisée et a servi à déterminer la réponse de poils modélisés par des systèmes oscillatoires du second ordre. Le couplage visqueux a été lui aussi caractérisé en adaptant la PIV à des mesures à très petites échelles sur des poils biomimétiques micro-electro-mécanique (MEMS). Les perturbations générées lors des attaques d'araignées, principales prédatrices des grillons, ont aussi été mesurées et nous ont aidé à valider leurs modélisations numériques en dynamique des fluides computationnelles (CFD).



© T. Steinmann/IRBI – CNRS/Université de Tours

## b. La locomotion des Gerris

Les gerris, aussi communément appelés « araignées d'eau », du même sous-ordre que les punaises, glissent aisément à la surface des étangs à l'aide de leurs pattes hydrophobes, en produisant sur leur passage une allée de petites vaguelettes. Parce qu'elles sont petites et légères, elles sont soumises à des forces que bon nombre d'animaux ne perçoivent pas, les forces capillaires dues à la tension de surface. L'établissement d'un bilan énergétique complet pour un écoulement en surface libre nécessite l'estimation couplée et simultanée de la topographie de l'interface et de la vitesse d'écoulement sous la surface libre. Nous avons développé une extension de la technique PIV / PTV tomographique (tomoPTV) qui permet de caractériser la



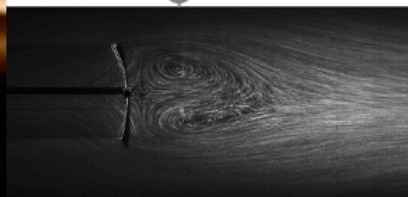
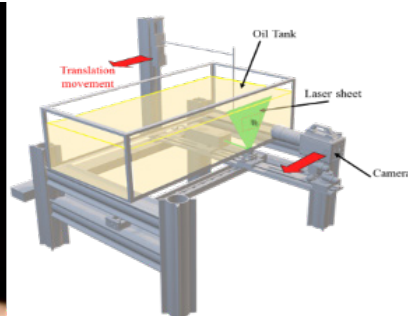
topologie de la surface ainsi que la dynamique des tourbillons générés lors de la propulsion de

ces insectes. Ces travaux nous forcent à concevoir des méthodes de mesures novatrices en sciences de la mesure, travaux que nous menons en collaboration avec des physiciens de Poitiers.

## C. L'odorat des papillons, l'audition des drosophiles



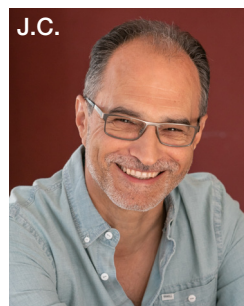
© M. Jaffar-Bandjee / IRBI – CNRS / Université de Tours



Ce plateau a aussi été utilisé pour caractériser les écoulements autour des antennes du papillon *Samia cynthia* et déterminer comment la morphologie particulière des antennes influence la perception des odeurs. Nos instruments nous ont permis de caractériser la structure de l'écoulement acoustique à très petite échelle autour des antennes de *Drosophila melanogaster*. Les débouchées pratiques de ces études sont par exemple la recherche de substances explosives par olfaction actives de robots.

### Contacts : Jérôme CASAS & Thomas STEINMANN

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI)  
 UMR 7261 CNRS / Université de Tours  
 Parc Grandmont, Avenue Monge, 37200 Tours, FRANCE  
 Email : [stephane.boyer@univ-tours.fr](mailto:stephane.boyer@univ-tours.fr) ;  
[thomas.steinmann@univ-tours.fr](mailto:thomas.steinmann@univ-tours.fr)  
 Tél : +33 (0)2 47 36 74 55 ; +33 (0)2 47 36 73 66



## Un partenaire industriel de l'Institut de Chimie Organique et Analytique d'Orléans : la Pharmacie centrale des armées

Implantée sur la commune de Chateau, au Nord d'Orléans, la Pharmacie centrale des armées est un établissement fabricant et exploitant de médicaments stériles et non stériles ainsi qu'une Pharmacie à usage intérieur du Ministère des armées. En l'espèce, elle fabrique des spécialités sous autorisation de mise sur le marché et des médicaments spécifiques aux besoins des armées en l'absence de spécialités équivalentes. Ces médicaments sont principalement des contre-mesures médicales (antidotes) aux agents des menaces nucléaires, radiologiques, biologiques et chimiques (NRBC) mais aussi des présentations adaptées aux besoins opérationnels, notamment pour l'amélioration de la vigilance du combattant, la prise en charge de la douleur et du risque hémorragique du blessé de guerre. Sur le Camp militaire de Chateau depuis 1971, la Pharmacie centrale des armées a été reconstruite en 2002 dans sa configuration actuelle. Cet outil industriel pharmaceutique a été conçu avec des capacités de développement et de production flexibles et de dimensionnement adapté au format des armées en permettant la fabrication de nombreuses formes pharmaceutiques. A cet égard, la Pharmacie centrale des armées (PCA) est devenue le partenaire industriel du projet DENALPOVIR (Développement d'un Nouvel Antiviral à Large spectre contre les POxVIRus) au côté de l'Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA), centre national de référence des orthopoxvirus, de NeoVirTech, société de biotechnologie développant notamment des systèmes de visualisation en temps réel des processus de répllication virale, de l'Institut de chimie organique et analytique (ICOA), laboratoire de renommée internationale spécialisé dans le domaine des molécules antivirales.



### 230 années d'histoire !

Le 20 septembre 1792, l'armée de la nation repousse les Prussiens de la butte du moulin de Valmy. Cette confrontation met en évidence la faiblesse de l'approvisionnement des armées en médicaments : leur quantité est insuffisante et leur qualité aléatoire. Bayen et Parmentier, apothicaires militaires, membres du conseil de santé des hôpitaux militaires, proposent alors la création d'un établissement dont la mission serait de pourvoir aux besoins des armées en médicaments de qualité. La convention du 3 ventôse An II de la république fonde le magasin général des médicaments dont l'installation est décidée dans les dépendances de la Maison du Champ de Mars (Ecole militaire). Michel, Jean, Jérôme Dizé en devient le premier Pharmacien en chef.

Devenu Pharmacie centrale des hôpitaux militaires de la République française, ce premier établissement pharmaceutique du genre est transféré de la Maison du Champ de Mars en 1809 vers l'ex-abbaye royale du Val de Grâce. D'autres déménagements ont alors suivi, de la

rue Saint Dominique, à la rue de l'Université en passant par la rue du Cherche midi. Un avis du Conseil de santé de 1803 fait état d'une demande de médicaments en provenance du corps expéditionnaire en Algérie ; « les prévisions ont été mûrement réfléchies ; l'état doit être rempli en totalité par la Pharmacie centrale, car on a acquis la certitude que la plupart des médicaments achetés en urgence était de mauvais choix et ne jouissait que faiblement de leurs propriétés ». Parmi ces médicaments figure le sulfate de quinine dont la place deviendra prépondérante à la suite des travaux de Maillot. En 1854, c'est l'expédition de Crimée qui nécessite des besoins considérables de médicaments en raison d'épidémies de choléra et de typhus. L'effort fourni en 1870 par la Pharmacie centrale est mis en relief dans un rapport adressé au Conseil de santé par le Pharmacien principal Fournez, son Pharmacien chef, où sont résumées les opérations effectuées pendant la période la plus active de la guerre et pendant le siège de Paris.

Sous l'appellation de Pharmacie centrale du service de santé militaire, elle prend possession de bâtiments construits dans le jardin de l'ancien gouverneur des Invalides en 1903. Les ampoules médicamenteuses voient le jour à la Pharmacie de réserve de Casablanca et constitue une évolution pharmacotechnique certaine universellement reconnue. L'introduction des comprimés a été plus sujette à caution malgré l'inscription au formulaire des hôpitaux militaires des comprimés de quinine en 1894 et d'opium en 1900. Masson, Pharmacien militaire chargé d'étude par la Direction du service de santé rapporte les avantages et inconvénients de cette nouvelle forme galénique ; « le comprimé est la forme la plus simple, la plus pratique et la plus économique... il remplace des pesées longues et délicates... le même poids de substance est présenté sous un plus petit volume, moins accessible aux agents extérieurs », « mais la compression rend le médicament moins accessible aux solvants et en retarde l'absorption... altère sa physionomie et rend difficile tout essai de diagnose par examen de l'aspect ». Les galénistes de l'époque se sont néanmoins accordés sur l'intérêt de cette nouvelle forme en étudiant de nouveaux excipients solubles, des colorants, ...

En 1931, les locaux de l'Avenue de Tourville s'avérant trop exigus, la Pharmacie centrale rejoint au Fort de Vanves ses ateliers de thermométrie et d'électroradiologie. Cette dernière activité sera abandonnée en 1939 au profit de l'établissement central d'électroradiologie. En 1940, l'invasion allemande entraîne l'arrêt de son activité. La Pharmacie centrale est alors projetée sur Mauriac (Cantal) puis sur Chatel-Guyon avant de cesser dès 1941 toute production pendant la seconde guerre mondiale. Ce n'est qu'en septembre 1944 qu'elle réintègre le Fort de Vanves dépouillée de tous ses équipements réquisitionnés et expédiés à Berlin en 1940. La remise à niveau du plateau technique

s'est étalée sur plusieurs années avec notamment l'acquisition des premières presses à comprimer rotatives en France ; une presse à comprimer Frogerais dont la cadence théorique était de 30 000 comprimés par heure.

Le volume de production connaît alors un essor considérable. En 1947, la Pharmacie centrale expédie en un trimestre 25 tonnes de médicaments et matériels au corps expéditionnaire d'Extrême Orient et autant aux Forces Françaises stationnées en Allemagne. Les conflits engagés sur les théâtres d'opération d'Indochine puis d'Algérie auront un impact sensible sur la production toujours grandissante de comprimés, poudres, teintures, alcoolats, solutés, collutoires, thermomètres, ligatures et d'autres articles ou médicaments.

La dimension véritablement industrielle de ses activités conduit alors à son déménagement vers les anciens locaux d'une base américaine installée à Chanteau (Loiret) dans le cadre de l'Organisation du Traité de l'Atlantique Nord.

En 1995, au regard de l'évolution des référentiels (5ème édition des Bonnes pratiques de fabrication), la décision est prise de reconstruire un nouvel établissement conforme aux derniers standards de qualité. Le projet aboutira en 2002 après les phases conventionnelles d'avant-projet sommaire, d'avant-projet détaillé, de qualification globale des installations et d'autorisation administrative de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (actuelle Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé).



## Un outil industriel agile, polyvalent, adapté aux besoins des armées et s'ouvrant aux biotechnologies

Avec le statut d'établissement pharmaceutique fabricant, concomitamment à celui de pharmacie à usage intérieur (PUI), la PCA jouit de l'exonération d'enregistrement de ses spécialités pharmaceutiques (AMM) dès lors que leur usage est spécifique aux besoins de la sécurité et de la défense nationales et en l'absence de spécialités équivalentes et disponibles sur le marché (article L. 5124-8 du Code de la santé publique). Pour autant, l'ensemble de ses travaux de développement est guidé par l'objectif de démontrer la qualité, la sécurité et l'efficacité de ses médicaments. Ce triptyque est assuré sur la base des compétences propres de la PCA mais aussi à l'appui de partenaires académiques, institutionnels ou privés notamment dans le champ des études précliniques et cliniques.

Outre ces singularités d'ordre réglementaire, la PCA se distingue par son aptitude à produire des médicaments non stériles et stériles au sein d'une même unité. Parmi ces deux familles, elle réalise la plupart des formes pharmaceutiques,

avec une large gamme de formats, mais avec des tailles de lot s'apparentant plus à des besoins pour des études cliniques cependant parfaitement adaptés aux besoins des armées.

Les domaines thérapeutiques couverts par la gamme de produits développés et fabriqués par la PCA concernent principalement les contre-mesures médicales des risques nucléaires, radiologiques, biologiques et chimiques (NRBC) dont la résurgence de la menace est désormais évidente, dans un monde instable, aux rapports de force désinhibés.

À cet égard, la PCA élargira son arsenal thérapeutique en recourant aux biotechnologies qui permettront de contrer tant les maladies infectieuses émergentes que les agents biologiques dont l'usage militaire ou terroriste a d'ores et déjà été révélé. Ainsi, dès 2022, la PCA disposera de capacités opérationnelles de préparation à usage unique et de répartition aseptique sous isolateur adaptées à la production de biomédicaments.

### Conclusion

Dans le contexte de durcissement géostratégique et d'intensification de la conflictualité, la PCA assure la mutation permanente de ses installations industrielles de production de médicaments et entretient un programme de développement pharmaceutique soutenu pour assurer aux armées et à la Nation les meilleures

réponses aux menaces protéiformes auxquelles elles sont et seront exposées. Le projet de collaboration PCA-IRBA-ICOA-NeoVirTech DENALPOVIR s'inscrit pleinement dans cette veine de résilience et signe le dynamisme de la Région Centre-Val-de-Loire tant dans le domaine pharmaceutique que le secteur de la défense.

Pour en savoir plus :

<https://www.defense.gouv.fr/sante/mediatheque/photos/pharmacie-centrale-des-armees/pharmacie-centrale-des-armees>

**Contact : François CAIRE-MAURISIER**, Pharmacien en chef (COL)  
Commandant et pharmacien responsable de la Pharmacie centrale des armées  
Professeur agrégé de l'École du Val-de-Grâce  
Camp d'Orléans – Chanteau, TSA 30004, Fleury les Aubrais cedex  
Tél : 02 38 60 73 11 / 06 30 93 18 67  
Mail : [francois.caire-maurisier@intradef.gouv.fr](mailto:francois.caire-maurisier@intradef.gouv.fr)

## Les outils et les acteurs du développement économique en région Centre-Val de Loire

La loi no 2015-991 du 7 août 2015, également connue comme la Loi NOTRe (Nouvelle Organisation Territoriale de la République) fait partie de l'acte III de la décentralisation et vise notamment à renforcer les compétences des Régions et des établissements publics de coopération intercommunale (EPCI).

Dans le cadre de cette loi, les Régions voient leurs pouvoirs renforcés par des transferts de compétences issues des départements, par un accroissement de compétences préexistantes, et une extension de leur pouvoir réglementaire. Les Régions auront donc un rôle de chef de file renforcé par la loi NOTRe, dans l'élaboration, les orientations et la mise en œuvre de la stratégie de développement économique sur leurs territoires.

À ce titre, les Régions sont chargées d'élaborer un Schéma Régional de Développement Economique, d'Innovation et d'Internationalisation (SRDEII) qui est prescriptif et définit les régimes d'aides aux entreprises, de soutien à l'internationalisation et d'aides à l'investissement immobilier et à l'innovation des entreprises, ainsi que celles relatives à l'attractivité du territoire régional. Il doit également définir les orientations en matière de développement de l'économie sociale et solidaire et celles destinées à favoriser un développement économique durable et équilibré du territoire, tout en œuvrant au maintien des activités économiques déjà existantes. Les autres niveaux de collectivités peuvent également intervenir mais uniquement avec l'accord de la Région ou directement mais dans des cas spécifiquement prévus par la loi.

Une présentation générale des outils et des acteurs du développement en région Centre-Val de Loire a été faite par Catherine Dagorn-Scaviner dans la lettre n°72 de Juin 2020. A la suite de cette introduction, une présentation du cluster pharmaceutique Polepharama par Denis Marchand (Chargé de projets Innovation Biomédicaments à Polepharma), de l'Agence régionale Dev'Up par Lucie Chamaret, des pole de compétitivité Atlanpole Biotherapies par Fabienne Suquet et Vegepolys Valley par Aurélien Lepennetier ont été présentés dans les lettres n°72, n°73 et n°74. Cette série d'articles se poursuit donc dans la lettre n°75 avec la présentation du cluster DREAM Eau & Milieux du pole de compétitivité France Water Team.



### DREAM

#### Durabilité de la Ressource en Eau Associée aux Milieux



Localisé à Orléans, le Pôle DREAM Eau & Milieux réunit et anime un écosystème d'innovation de plus de 100 membres actifs (START-UP, TPE/PME, ETI, grands groupes, instituts de recherche, organismes de formation, associations...) principalement situés en Centre-Val de Loire, mais également en Pays de Loire et en Bretagne. Ses compétences et savoir-faire s'étendent de la métrologie à l'ingénierie environnementale jusqu'aux traitements alternatifs de l'eau et des sols. L'une des caractéristiques du réseau DREAM est sa diversité d'acteurs, qu'il s'agisse d'offreurs de solutions ou bien d'acteurs socio-économiques dont l'activité dépend de la maîtrise de la ressource en eau, tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif. L'émergence des structures de la donnée environnementale et du numérique (big data, IoT, intelligence artificielle, jumeaux numériques, etc.) est également une évolution à souligner.

## 1. DREAM Eau & Milieux est membre fondateur de France Water Team, le Pôle de compétitivité de la filière de l'eau depuis 2019

L'association France Water Team (FWT), labellisée par l'État le 5 février 2019 est le nouveau Pôle de compétitivité de la filière de l'eau qui rassemble selon un modèle fédératif les ambitions des clusters AQUA-VALLEY, DREAM Eau &



Milieux et HYDREOS. Ensemble, ils servent les enjeux d'innovation de la filière de l'eau que sont la préservation de la qualité de l'eau et la gestion de la quantité d'eau.

AQUA-VALLEY, DREAM Eau & Milieux et HYDREOS conservent leurs marques, leurs entités juridiques respectives et surtout leurs ancrages territoriaux en poursuivant leur action auprès des acteurs économiques et académiques des Régions Occitanie / Pyrénées-Méditerranée, Sud Provence-Alpes-Côte d'Azur, Centre - Val de Loire et Grand Est. Les trois structures fondatrices de France Water Team renforcent leur coopération et la mutualisation de leurs ressources et de leurs compétences pour offrir à leurs adhérents « affiliés » les services répondant aux enjeux nationaux

et internationaux de la filière de l'eau. France Water Team, c'est près de 450 adhérents dont 370 entreprises. 229 projets ont été labellisés-financés pour un montant de près de 300 millions d'euros.

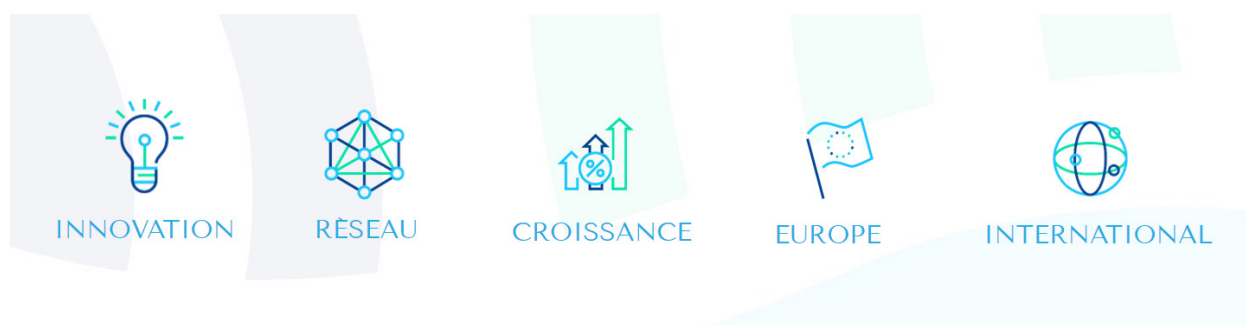
DREAM se focalise plus spécifiquement sur le thème de la gestion durable et partagée de l'eau en tant que ressource, en lien avec les milieux sols – sous-sols. Ce qui est pleinement en cohérence avec la Stratégie Régionale d'Innovation pour une Spécialisation Intelligente (SRI-SI)<sup>1</sup> de la région Centre-Val de Loire qui définit cinq domaines de spécialisation dont celui relatif à la métrologie et l'ingénierie environnementales pour la préservation et la gestion durable des ressources naturelles. Les contraintes croissantes sur les ressources en eau dans un contexte de changement climatique, les enjeux de la transition écologique couplée à la transition numérique, l'évolution vers une économie circulaire plus sobre confortent le positionnement de DREAM et ouvrent de nouvelles perspectives, en lien avec de nouveaux marchés.

### DREAM Eau & Milieux en quelques chiffres clés

- 105 adhérents dont 70% d'entreprises
- 103 projets labellisés et financés
- 95 millions d'euros de financements de projets R&D labellisés

## 2. Offre de services à nos adhérents

Cinq types de services, harmonisés et enrichis dans le cadre de la nouvelle fédération France Water Team, sont proposés aux adhérents du pôle :



- **Innovation** : Il s'agit de la dimension innovation par les projets depuis l'identification des appels à projets, l'émergence, l'appui au montage, la valorisation. C'est également la labellisation des projets qui est une mission réalisée par les pôles de compétitivité pour le compte des pouvoirs publics. La labellisation est une source de plus-value et de différenciation positive d'un projet ; elle permet l'accès à des taux d'aide bonifiés pour certains appels à projets. Depuis sa création, 103 projets ont été labellisés-financés au sein de l'écosystème DREAM pour 95 millions d'euros d'aide.

- **Réseau** : Adhérer à un pôle, c'est multiplier les opportunités de rencontres et d'échanges entre les membres, consolider les liens avec les partenaires. Cela se traduit par l'organisation de nombreux événements, dont des journées scientifiques ou techniques, par la participation à des salons en France et à l'étranger (Cycl'eau Vichy, CGLE...), par l'organisation de rencontres BtoB et par la mise en place d'échanges inter adhérents comme lors de notre événement annuel le DREAM DAY. DREAM anime également un Groupe de Travail (GT) spécifique sur la métrologie qui est un axe d'excellence régionale ; il couvre des sujets comme le développement de nouvelles technologies de mesure, le suivi des micropolluants ou la promotion des outils de biosurveillance.

- **Croissance** : L'objectif de ce service en développement est d'accompagner les adhérents, en particulier les PME, dans leur croissance qu'il s'agisse de montée en compétences ou d'ingénierie financière. En 2020, France Water Team et la Filière Française de l'Eau, ont soutenu activement

la mise en œuvre du premier Accélérateur Eau Bpifrance dédié aux TPE-PME. Cet accélérateur sur-mesure répond aux spécificités et enjeux du secteur de l'eau. DREAM s'est tout particulièrement engagé sur le thème de la Responsabilité Sociétale des Entreprises (RSE) et des Objectifs de Développement Durable (ODD) qui représente un levier de croissance pour les entreprises. Ce sujet transversal fait l'objet d'actions d'animation, labellisées par la COP régionale et conduites en synergie avec de nombreux acteurs du territoire (pôles, clusters, agence de développement).

- **Europe** : L'objectif de ce service est d'accompagner les adhérents dans la préparation de leurs dossiers de financement européen et dans leur recherche de partenaires ou de consortiums candidatant sur ces mêmes guichets. DREAM est impliquée dans la plateforme européenne de spécialisation « Water Smart Territories » ; cette plateforme est portée par trois régions européennes (Centre-Val de Loire, Aragon - Espagne, Friesland - Pays-Bas) qui ont placé la gestion des ressources en eau au cœur de leurs priorités, en cohérence avec leur stratégie régionale d'innovation.

- **International** : Service historique mutualisé des trois pôles depuis 2015, associés aux clusters Eau Milieux Sols (EMS) et Ea Eco Entreprises, ce volet réunit plus de 650 structures. L'ambition de ce service est de stimuler l'internationalisation de nos entreprises et d'accompagner celles déjà actives à l'export aux travers de diverses actions (espaces FWT sur des salons internationaux à prix réduits, données qualifiées sur des marchés cibles, etc.). France Water Team, c'est également 30 partenariats stratégiques internationaux.

### 3. Des projets structurants sur des enjeux stratégiques

Outre le déploiement de ces cinq services au plus près des besoins et des attentes spécifiques de ses adhérents, DREAM est impliqué dans des réseaux et des projets structurants au bénéfice de l'écosystème, ce qui permet de traiter d'enjeux stratégiques.

DREAM a été mobilisé dans le cadre du programme structurant PIVOTS, soutenu par la région Centre-Val de Loire. L'objectif est de préserver les ressources naturelles (sols, sous-sol, eaux de surface, eaux souterraines, air) à un moment où elles sont doublement menacées par les activités humaines et le changement climatique. PIVOTS est

un ensemble coordonné de 7 plateformes expérimentales et analytiques qui offrent aux scientifiques et aux entrepreneurs des moyens d'expérimentations, de mesures et de tests en laboratoire et sur le terrain pour des projets innovants dans le domaine de l'ingénierie et de la métrologie environnementale. DREAM y est plus spécifiquement en charge de la valorisation socio-économique à l'interface entre les acteurs académiques et les entreprises, avec l'objectif de générer de nouveaux produits et services. Une nouvelle initiative s'engage en 2021 dans la continuité de PIVOTS, le programme Environnement & Numérique JU-



NON. L'objectif est de mettre en place des briques de service numérique afin d'améliorer le suivi, la prédiction et la compréhension de notre environnement pour une meilleure gestion des ressources naturelles. Pour DREAM, la mission reste inchangée en se focalisant sur la valorisation socio-économique.

Le projet GIEP sur la Gestion Intégrée des Eaux Pluviales est un autre exemple d'intervention du pôle DREAM. L'action est réalisée au bénéfice d'une collectivité, la Métropole d'Orléans avec le soutien de l'Agence de l'Eau Loire Bretagne ([www.eaux-pluviales-poledream.org](http://www.eaux-pluviales-poledream.org)). L'objectif de GIEP est de rester au plus près du cycle naturel de l'eau. Limiter le ruissellement, favoriser l'infiltration pour réduire les risques d'inondation, favoriser le développement de la biodiversité en milieu urbain, lutter contre les îlots de chaleur sont au nombre des

objectifs recherchés. Ces derniers prennent tout leur sens dans un contexte de changement climatique avec des événements extrêmes de plus en plus fréquents. Les missions de DREAM, couvrent l'accompagnement au changement, la formation, la sensibilisation et la communication, la mise en place et le suivi de démonstrateurs.

Dernier exemple, le projet européen Interreg BigData4Rivers dont l'objectif est d'améliorer la qualité de l'eau des rivières et fleuves européens via des politiques de gestion intelligente de l'eau, notamment via l'intégration des Technologies de l'Information et de la Communication. Ce projet est une vitrine des enjeux « Eau et numérique » pour le territoire de la Région Centre-Val de Loire et permet de valoriser les « bonnes pratiques » du territoire en faveur d'une gestion de l'eau intelligente.

#### 4. Des enjeux porteurs d'opportunités

L'actualité illustre l'acuité des enjeux couverts par France Water Team et par DREAM : gestion durable et partagée des ressources en eau dans un contexte de changement global, gestion intégrée des eaux pluviales pour des espaces urbains plus résilients, mise en œuvre de Solutions Fondées sur la Nature pour préserver ou restaurer des milieux dégradés, transition numérique au service des enjeux (qualitatifs et quantitatifs) de la ressource en eau, etc.

Ces enjeux touchent l'organisation, le fonctionnement de notre société, de notre territoire. Ils sont de nature à fragiliser notre économie mais représentent également des facteurs potentiels de développement et de croissance. L'innovation portée par les acteurs de l'écosystème France Water Team et DREAM, qu'ils soient du monde de

l'entreprise, de la recherche ou de la formation, est un atout qui doit permettre de développer des services, des procédés, des produits originaux et prendre des positions de premier plan sur les marchés de demain.

##### Pour en savoir plus :

DREAM Eau & Milieux  
[www.poledream.org](http://www.poledream.org)

France Water Team  
[www.france-water-team.com](http://www.france-water-team.com)

**Contact : Thaïs MASSON**, Alternante Chargée de Communication et d'Événementiel

DREAM Eaux & Milieux,  
9 avenue Buffon - 45063 ORLEANS Cedex 2



**Hervé GABORIAU**, Directeur général  
DREAM Eaux & Milieux,  
9 avenue Buffon - 45063 ORLEANS Cedex 2  
[herve.gaboriau@poledream.org](mailto:herve.gaboriau@poledream.org)

## Des horloges cellulaires régleraient les différences de développement entre les espèces

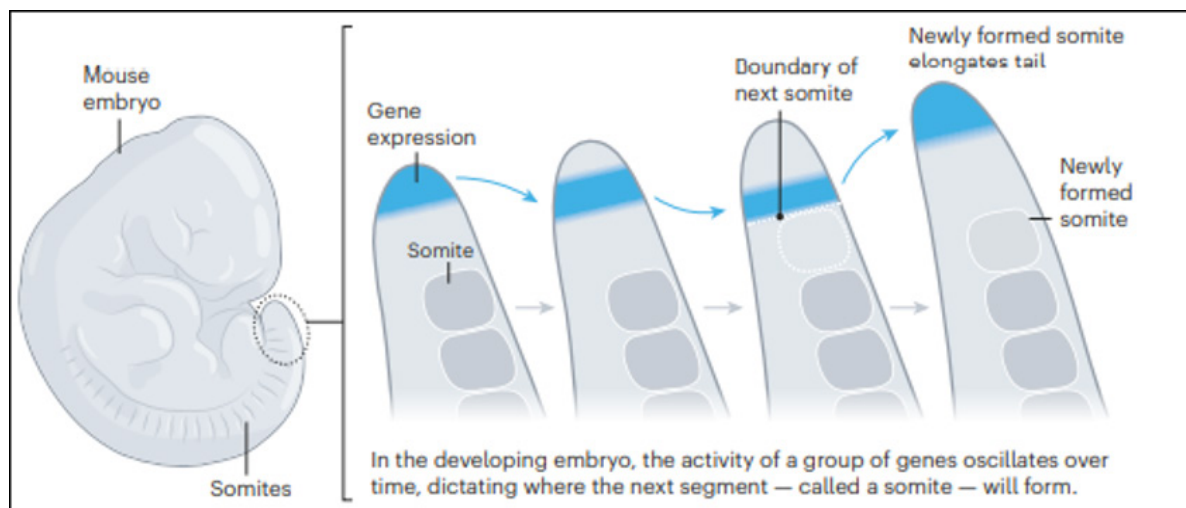
*Les cellules animales s'activent selon un rythme propre aux espèces. Ainsi les cellules de souris fonctionnent plus vite que les cellules humaines et ces dernières plus rapidement que celles de baleine. Ces différences pourraient être à l'origine de la taille (le cou des girafes est le plus long des mammifères malgré le même nombre -7- de vertèbres) d'un animal ou de la disposition de ses organes et peut-être même de sa durée de vie. Mais les biologistes se demandent depuis longtemps quels sont les chronomètres cellulaires qui contrôlent ces vitesses et pourquoi elles varient.*

Il y a en particulier au début de la vie embryonnaire une horloge qui active et désactive les gènes selon un rythme régulier ; c'est celle qui crée des segments corporels répétés tels que nos vertèbres.

Cette « horloge de segmentation » fonctionne 2 fois plus vite chez la souris que chez l'homme, ainsi que l'ont montré les des cultures de cellules à l'origine de ces horloges. Lors du développement d'embryons de poulet, un gène dans les cellules du somite se transformant par la suite en une vertèbre « c-hairy1 » s'allume et s'éteint toutes les 90 minutes, le temps nécessaire à la formation d'un somite. Des ondes d'expression c-hairy1 se déplacent le long de l'embryon de la queue à la tête, oscillant en synchronisation avec le développement des somites. Des horloges de segmentation

produit la protéine Hes7, et lorsque suffisamment de protéine s'est accumulée, le gène est désactivé. Ensuite, une fois que les protéines Hes7 ont été dégradées, le gène peut se réactiver. De cette façon, Hes7 continue de s'allumer et de s'éteindre. Mais on ne sait toujours pas pourquoi Hes7 s'allume et s'éteint à différentes vitesses dans différentes espèces, et donc comment la vitesse de l'horloge de segmentation est finalement contrôlée. Une série d'études au cours des trois dernières années propose une réponse. La protéine Hes7 et sa matrice d'ARN étaient en effet dégradées beaucoup plus lentement dans les cellules humaines.

Ce qui interpelle, c'est que cette lente dégradation des protéines humaines ne se limite pas à Hes7, ni même à l'horloge de segmentation. Ainsi



similaires ont depuis été trouvées chez des souris et d'autres espèces. Mais tandis que l'horloge de segmentation humaine est lente, avec des oscillations de 5 à 6 heures, chez la souris seulement 2 à 3 heures sont nécessaires, c'est 2 fois moins de temps : c'est un exemple clair d'hétérochronie (E. Haeckel). Mais pourquoi l'horloge de segmentation humaine est-elle si lente et qu'est-ce qui la contrôle? Pour explorer cela, l'équipe a examiné le fonctionnement réel du gène équivalent chez les mammifères, Hes7. Lorsque le gène est actif, il

la différenciation des motoneurones dans la moelle épinière d'embryons de souris et d'humains. Cette différenciation a lieu dans une partie de l'embryon distincte de la formation des vertèbres et n'implique pas l'horloge de segmentation. Pourtant, le processus est encore lent chez l'homme, prenant environ 2 semaines, contre 3 à 4 jours chez la souris. Les protéines humaines prennent environ deux fois plus de temps à se dégrader que les protéines de souris, ce qui semble déterminer la vitesse à laquelle les motoneurones se développent.

L'idée que le taux de dégradation des protéines est la clé de la variation du rythme de l'horloge de segmentation ne satisfait pas entièrement car il est admis que c'est la structure des protéines (très semblable entre les espèces pour des protéines conservées) qui détermine leur durée de vie.

Ainsi, d'autres équipes étudient si les protéines en plus d'être dégradées à des taux plus bas pourraient être produites plus lentement dans les cellules humaines que chez les autres espèces.

En examinant la rapidité avec laquelle les protéines étaient créées et détruites dans les cellules cutanées de 12 mammifères, allant des hamsters dorés qui vivent à peine 4 ans, aux humains, en passant par la baleine boréale, (qui peuvent vivre 200 ans), on a pu établir une forte corrélation inverse avec la durée de vie: les espèces à plus longue durée de vie avaient un renouvellement plus lent des protéines

Il se pourrait que les animaux à longue durée de vie réduisent le renouvellement global et identifient uniquement les protéines qui sont endommagées pour les dégrader.

Il se pourrait aussi que ce soit la vitesse des réactions chimiques qui soit la clé de ces différences

Quoiqu'il en soit la possibilité de reconstruire une horloge biologique avec juste des gènes et protéines dans des cellules souches a permis de progresser dans l'étude des mécanismes d'hétérochronie, source de différences interspécifiques commençant dans l'embryon.

**H.S.**



**Pour en savoir plus :** Michael Marshall , Nature 592 , 682-684 (2021)

## L'épigénétique, un nouveau levier pour améliorer la tolérance des arbres à la sécheresse

Avec le changement climatique, la fréquence des sécheresses est amenée à augmenter.

Dans une étude menée dans le cadre du projet ANR Epitree, un consortium d'équipes de recherche (INRAE, CEA, IRD, Universités d'Orléans et d'Oregon) a étudié le rôle de l'épigénétique (essentiellement méthylation de l'ADN) dans la tolérance à la sécheresse.

En comparant des peupliers sauvages à des lignées dont la régulation de la méthylation de l'ADN a été modifiée, il a été observé des modifications épigénétiques ciblant des gènes de la réponse hormonale à la sécheresse.

Ces modifications touchent notamment à deux voies hormonales, les cytokinines et l'acide salicylique.

Mais ces remaniements de la méthylation de l'ADN dans les lignées modifiées affectent également l'activité d'éléments génétiques mobiles, ou éléments transposables. Chez les plantes, ces séquences peuvent constituer plus de 50% de leur patrimoine génétique. Cette étude montre que les modifications épigénétiques induites par la sécheresse activent directement 89 de ces éléments transposables se situant à proximité des gènes impliqués dans la réponse aux stress environnementaux. Parmi eux, deux se sont réinsérés dans le génome, induisant des mutations génétiques qui pourraient se transmettre à la descendance.

**J.-C. C.**

**LBLGC** Laboratoire de Biologie des Ligneux et Grandes Cultures  
UPRES EA 1207



**INRAE**

**Référence :** Mamadou Dia Sow et al. *RNAi suppression of DNA methylation affects drought stress response and genome integrity in transgenic poplar*. New Phytologist (2021) <https://doi.org/10.1111/nph.17555>

*Le 33<sup>e</sup> 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
- ❑ GLYcoDiag, Chevilly (45)
- ❑ GreenPharma, Orléans (45)
- ❑ Servier (45)



**Pour toute information, contacter**

**Bertrand CASTAING**, Président de Biotechnocentre ou **Nathalie RICHE**, Secrétariat  
Adresse : Faculté de Pharmacie, Université François Rabelais, 31 avenue Monge, 37200 Tours  
Email : [bertrand.castaing@cnrs-orleans.fr](mailto:bertrand.castaing@cnrs-orleans.fr) ou [biotechnocentre@sfr.fr](mailto:biotechnocentre@sfr.fr)