

- **Éditorial de Catherine Taragnat**
- **Biotechnocentre actualités**
 - Les doctorants de l'ED549 à l'honneur au 34^e colloque
 - 2^e journée scientifique inter-réseaux
« Vigilance environnementale : détecter, prévoir, agir »
- **Entretien avec un chercheur « Le Studium »**
 - Dr Livio Casarini, Université de Modène, Italie
- **Vie des laboratoires**
 - Interview de Lucie Pellissier, médaille de bronze du CNRS 2022
 - De la pervenche aux levures : une nouvelle histoire de bioproduction des *Vinca* alcaloïdes anticancéreux racontée par Vincent Courdavault
- **Nouveaux équipements en Région Centre-Val de Loire**
 - La plateforme MO2VING, de la molécule au petit animal
- **NeoVirTech, entreprise de biotechnologie spécialisée dans le développement de molécules à activités antivirales et le test de processus de désinfection, un soutien de Biotechnocentre depuis 2021**
- **Liste des thèses soutenues en 2022**
- **Brèves Biotechnologiques**

SOMMAIRE

Ont collaboré à la rédaction de cette lettre :

Luigi Agrofoglio ; Christian Andres ; Sirine Atwi-Ghadar ; Arthur Battisti ; Valentin Beauvais ; Hélène Bénédicti ; Marc Bertrand ; Franck Brignolas ; Livio Casarini ; Bertrand Castaing ; Jean-Claude Chénieux ; Vincent Courdavault ; Jean-Louis Dacheux ; Catherine Dagorn-Scaviner ; Gwenaëlle Deconninck ; Agnès Delmas ; Guillaume Gabant ; Franck Gallardo ; Florian Guillou ; Nathalie Guivarc'h ; Maxime Meunier ; Aurélien Montagu ; Émilie Munnier ; Lucie Pellicier ; Angélique Petit ; Gilles Pilate ; Clément Rivière ; Henri Salmon ; Julien Sobilo ; Catherine Taragnat ; Dieudonnée Togbe ; Marie-Claude Viaud-Massuard ; Élodie Villalonga ; Maurine Villiers ; Daiva Vozgirdaite

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

Chères et chers collègues, chères doctorantes, chers doctorants,

Le Réseau Thématique de Recherche Biotechnocentre, axé sur l'animation scientifique dans le domaine des Biosciences, poursuit sa route déjà très longue, commencée en 1987 en tant qu'association sous l'impulsion des professeurs Jean-Claude Chénieux et Michel Monsigny. Ce réseau a à cœur de donner de la visibilité à la diversité des recherches entreprises par les laboratoires de la Région Centre Val de Loire pour promouvoir des collaborations fructueuses entre les acteurs de la recherche, qu'ils soient du secteur académique ou du secteur privé. Sur ce chemin se rencontrent des chimistes, des biologistes cellulaires, moléculaires, des comportementalistes, des biochimistes... qui s'affairent autour de l'animal, des insectes, du végétal ou de la santé humaine et qui ouvrent la voie à la pluridisciplinarité et à l'innovation. Quelques exemples vous en sont donnés dans cette lettre.

Les rendez-vous de l'année 2023 sont multiples. Le 13 avril se tenait une journée thématique co-organisée à notre initiative par les RTR Biotechnocentre, MIDI, Entomocentre et l'ARD Sycomore dont le titre était « Vigilance environnementale : détecter, prévoir, agir ». Sur ce thème d'actualité, l'interaction de nos réseaux a montré toute sa pertinence par les regards croisés qu'il a suscités. Vous trouverez le récit de cette journée dans la lettre.

Le 23 juin prochain se tiendra la journée thématique annuelle de Biotechnocentre au château de Beaulieu à Joué-les-Tours. Cette année, elle propose d'explorer « Les mille et une facettes de l'ARN » autour d'orateurs de renom dont vous découvrirez la liste sur notre site internet. Cette journée nous promet de riches échanges autour des ARN sous toutes leurs formes, des archéobactéries à l'espèce humaine en passant par le monde végétal, jusqu'aux applications thérapeutiques.

Fidèle à la tradition qui a fait la notoriété de Biotechnocentre, le prochain colloque se déroulera les 19 et 20 octobre à la ferme de Courcimont. Ce lieu convivial situé en Sologne a accueilli l'an passé 140 participants. Cette année, le programme alternera la présentation de travaux d'invités extérieurs ou locaux, experts dans des domaines variés, ainsi qu'une session dédiée à l'un des programmes phares de la Région Centre Val de Loire, le programme ARD Biomédicaments. Il fera également une place importante aux doctorants de l'école doctorale Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant au travers de sessions de communications orales, pitches et posters. Les meilleures présentations au sein de ses sessions seront récompensées par un prix, à l'instar de celles de l'an passé rapportées dans cette lettre. Cette année, les étudiants ayant bénéficié d'un soutien financier pour une mobilité vers un laboratoire européen viendront partager leur expérience et les bénéfices qu'ils en ont retirés. Une dernière session sera consacrée au pôle étudiant pour l'innovation, le transfert et l'entrepreneuriat, PEPITE. Enfin, le colloque ne manquera pas de faire une place à la détente dans une atmosphère conviviale lors de la soirée du jeudi.

Au-delà de ses actions d'animation, Biotechnocentre a renouvelé cette année son soutien financier aux doctorants désireux d'effectuer une mobilité en Europe, persuadé qu'ils y trouveront de nouvelles approches et compétences pour développer leur projet de recherche ainsi que des opportunités de collaborations et d'accès à un réseau professionnel élargi.

Notre RTR ne pourrait pas mener l'ensemble de ces actions sans le soutien fort de la Région Centre Val de Loire que nous remercions bien vivement. Grâce au conseil régional, le RTR a vu sa convention avec la Région prolongée d'un an, donc jusqu'à fin 2023. Nous espérons qu'au-delà de cette date, la stratégie de soutien financier régionale envers la recherche et notre réseau sera maintenue car elle reste indispensable à la poursuite de l'animation scientifique proposée par Biotechnocentre dans le domaine des biosciences. Nos remerciements s'adressent également au CNRS, à INRAE, aux Universités d'Orléans et de Tours ainsi qu'aux entreprises régionales, Agro-Bio, GlycoDiag, GreenPharma notamment et la société toulousaine NéoVirTech pour leur généreux soutien.

Je tiens également à souligner que la réussite de nos animations repose sur votre présence et votre active participation. Nous vous en sommes très reconnaissants et nous vous attendons nombreux cette année à nos journées et colloques.

D'ici là, je vous souhaite de grandes réussites et de belles découvertes à la lecture de cette lettre qui retrace l'actualité et la vie des laboratoires œuvrant en Biosciences en Région Centre Val de Loire.

Bien à vous,

Catherine Taragnat
Présidente de Biotechnocentre

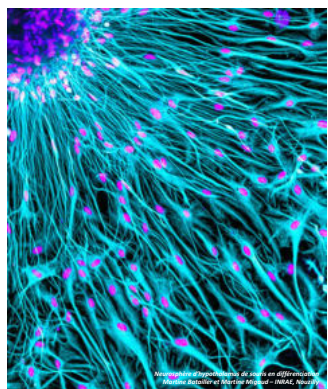
Le 34^e colloque de Biotechnocentre



Crédit: Photos Jean-Louis Dacheux

Instants choisis au 34^e colloque de Biotechnocentre

Les doctorants de l'ED 549 à l'honneur au 34^e colloque



Sous l'impulsion du Professeur Franck Brignolas (Président de l'Association 2012-2013) et des professeurs Luigi Agrofoglio et Philippe Roingard, Biotechnocentre a établi en 2012 un partenariat fort avec l'École Doctorale 549 « Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant » (SSBCV) commune aux Universités d'Orléans et de Tours. Biotechnocentre participe ainsi à l'animation de l'ED549 en organisant chaque année un colloque de 2 jours. Suite à la perte du site de Seillac et à l'annulation du colloque 2020, le 33^e colloque avait eu lieu exceptionnellement à Center Parcs (Sologne) en 2021. Le contrat du RTR Biotechnocentre 2 arrivant bientôt à son terme, le 34^e colloque a eu lieu à La Ferme de Courcimont (Nouan-le-Fuzelier, 41, Sologne) les 20 et 21 octobre 2022. Comme nous en avons l'habitude depuis 2012, un appel à résumé a été lancé par l'ED549 au printemps 2022. Les membres du Bureau ont retenu 9 doctorants pour des présentations orales réparties équitablement dans les six filières de l'ED, 67 doctorants pour des présentations par affiche et 16 présentations courtes d'affiches (communications « pitch »). 2 prix de 750 € ont été attribués aux deux meilleures présentations orales (toutes filières confondues) et 7 prix de 250 € ont récompensés les sept meilleures affiches de chaque filière. Les membres du bureau de l'ED549 et du Conseil d'Administration de Biotechnocentre, tiennent à vive-

ment remercier tous les doctorants qui ont participé au 34^e Colloque. Nous avons tous apprécié la qualité scientifique de vos présentations, le soin apporté aux supports de vos travaux et la clarté de vos propos. Nous comptons sur vous pour être de bons ambassadeurs de ces journées et espérons vous compter parmi nous au 35^e colloque qui se tiendra les 19 et 20 octobre 2023 à La Ferme de Courcimont à Nouan le Fuselier (41).

• Prix « Communication orale »

Nouvelles connaissances sur la régulation de la dynamique du cytosquelette d'actine via la voie de signalisation Rho-ROCK/LIMK2/cofiline : un nouveau mécanisme de régulation de l'activité de la cofiline par LIMK2

LIMK1 and LIMK2 kinases play a crucial role in actin remodeling by phosphorylating and inhibiting cofilin, an actin depolymerizing factor. As they are involved in several pathological mechanisms, LIMK are considered interesting therapeutic targets, but no LIMK inhibitor have reached preclinical stage yet. Thus, we need a better understanding of the molecular mechanisms involved in LIMK activity on cofilin to develop new therapeutic strategies. By site-directed mutagenesis, we identified an amino acid in the C-terminal end of LIMK2. Mutation of tyrosine 630 in alanine prevent LIMK2 activity on cofilin, while mutation of Y630 in phenylalanine is enough to entirely restore it, indicating that Y630 could play a role in protein structure-function. Y630A mutation also prevent phosphorylation on the canonical activation site of LIM kinases, threonine 505, and on the whole protein. As Y630F mutation only partially restored T505 phosphorylation but entirely restored whole-protein phosphorylation, we think that Y630 might play a crucial part in LIMK2 phosphorylation on undiscovered phosphorylation sites as well as on T505. We hypothesize that Y630 might play a role in LIMK2 dimerization and transphosphorylation, which would be mandatory for T505 activation and LIMK2 activity on cofilin.



Élodie VILLALONGA (CBM, UPR4301 CNRS, Université d'Orléans) (Filière C)



« Biotechnocentre permet de faire un tour d'horizon de la recherche en région Centre-Val de Loire. C'est un colloque qui met sur un pied d'égalité les chercheurs confirmés et les doctorants, qui permet d'assister à des conférences de qualité et partager des moments de convivialité autour de sujets variés, scientifiques ou non. »

• Prix « Communication orale »

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

L'amélioration de nos connaissances sur les cancers sont au cœur du développement d'immunothérapies antitumorales comme les microorganismes vivants, que ce soient des virus, des bactéries et des protozoaires. L'objectif de notre étude est d'évaluer le potentiel du protozoaire *Neospora caninum* dans un modèle murin de métastases pulmonaires de mélanome B16F10.

Dans ce modèle, trois voies d'administration de *N. caninum* ont été étudiées : sous-cutanée, intraveineuse et intranasale. Avec chacune d'elle, *N. caninum* contrôle le développement des métastases dans les poumons avec une meilleure efficacité des voies intraveineuse et intranasale. Pour optimiser l'efficacité de *N. caninum*,



une souche recombinante sécrétant de l'IL-15 a été développée. La protection antitumorale observée est ainsi améliorée avec une inhibition presque complète du développement des métastases après administration intranasale de cette souche. Cette inhibition est associée à un recrutement dans les poumons de cellules NK, de lymphocytes T CD8 ainsi que des macrophages activés caractérisés par leur polarisation vers un phénotype M1.



Cette étude renforce les résultats précédents obtenus avec *N. caninum* et son potentiel immunothérapeutique contrôlant le développement de tumeur primaire ainsi que de métastases.

Arthur BATTISTI (ISP, INRAE, Université de Tours) (Filière B)

« *Le colloque Biotechnocentre est un moment agréable et convivial. Le cadre du colloque est propice aux échanges entre les doctorants et les chercheurs présents.* »

• Prix « Affiche » Filière A

Nutrition précoce et orientation métabolique d'embryons de poulets divergents pour leurs réserves énergétiques musculaires

Chez les oiseaux, les embryons dépendent exclusivement du contenu nutritif de l'œuf d'origine maternelle. La caractérisation fine des différents compartiments de l'œuf est donc un élément clé pour comprendre le rôle des nutriments sur l'orientation métabolique précoce de l'embryon. Nos travaux ont été réalisés sur un modèle unique de deux lignées divergentes pour le pH ultime de la viande, critère reflétant les réserves en glycogène musculaire. Les premiers résultats ont montré des différences qualitatives et quantitatives pour les nutriments disponibles dans le vitellus et le liquide amniotique.

Ceci pourrait expliquer les différences de métabolisme observées dès l'éclosion. Pour déterminer le stade à partir duquel l'orientation métabolique se met en place chez les lignées pHu+ et pHu-, du liquide allantoïque a été prélevé aux jours 10, 14 et 17 du développement embryonnaire. Son rôle dans le stockage des déchets azotés en fait un compartiment pertinent pour fournir des indicateurs indirects du métabolisme des embryons. D'après les modèles obtenus par spectroscopie 1H-RMN, l'orientation métabolique semble établie précocement (dès E10). Chaque lignée possède une signature métabolique spécifique avec le recourt à différentes voies cataboliques chez les pHu+, pour produire de l'énergie.

Angélique PETIT (BOA INRAE Nouzilly, Université de Tours)

« *Ma participation au 34^e Colloque Biotechnocentre*



fut une véritable opportunité pour faire la connaissance de doctorants provenant de différentes filières et proposant des sujets sur diverses thématiques. Cet événement permet de présenter ses travaux de thèse dans un cadre chaleureux et bienveillant mais aussi d'écouter des présentations scientifiques de qualité. »



• Prix « Affiche » Filière B

Thérapie basée sur *Neospora caninum* armé d'anticorps thérapeutiques comme stratégie innovante pour le traitement du glioblastome

Plusieurs immunothérapies ont vu le jour dans le traitement du cancer avec notamment l'utilisation d'anticorps thérapeutiques ciblant les points de contrôle immunitaire. Dans plusieurs cancers, l'utilisation d'anticorps a considérablement augmenté la survie des patients ce qui n'est pas le cas du glioblastome. Dans la volonté de développer de nouvelles thérapies antitumorales innovantes, l'équipe



BioMAP a récemment mis en place une nouvelle stratégie basée sur l'utilisation de *Neospora Caninum*. Les

études réalisées ont montré que cet organisme unicellulaire est capable d'induire une régression tumorale en modèle murin. Fort de ces résultats, l'objectif du projet est de produire un protozoaire ayant la capacité de sécréter des anticorps thérapeutiques et in fine d'augmenter l'action antitumorale de ce microorganisme. Par l'intermédiaire de transfection, nous avons obtenu deux souches recombinantes capables de produire un anti-VEGF et un anti-PD1. Par ces travaux, nous envisageons de développer une plateforme thérapeutique basée sur *Neospora caninum*, avec un protozoaire capable de réintroduire une réponse immunitaire efficace au sein de la tumeur tout en ayant la capacité de sécréter des anticorps fonctionnels directement dans le microenvironnement tumoral.

Clément RIVIERE (ISP, INRAE, Université de Tours)

« *Au travers de présentations et de nombreux échanges, le colloque Biotechnocentre est une excellente occasion de découvrir les différents travaux scientifiques réalisés en région centre. La grande diversité des sujets présentés permet d'ouvrir son esprit à d'autres visions de la science et d'apporter une nouvelle réflexion à son travail de recherche.* »



• Prix « Affiche » Filière C

Eco-extraction par fluides supercritiques des composés naturels polaires

Le dioxyde de carbone supercritique (SC-CO₂) présente plusieurs avantages pour l'extraction de composés bioactifs naturels ; ce procédé est connu sous le nom d'extraction par fluide supercritique (SFE). Le



SC-CO₂ est non toxique, peu coûteux et son évaporation après extraction favorise la concentration spontanée des extraits. En plus, il est couramment utilisé pour extraire des composés non polaires mais est-il possible d'extraire des composés polaires avec cette technique ?

Dans ce cadre de recherche, l'extraction du bois de cœur du robinier de deux composés cibles : la Robinetine et la Dihydrorobinetine a été optimisée en utilisant un plan d'expériences. Les trois facteurs optimisés étaient la température et la pression, le pourcentage de modificateur avec trois niveaux. Cette méthode a ensuite été étendue à d'autres plantes



pour extraire des molécules polaires bioactives, comme les punicalagines et l'acide ellagique du péricarpe de grenade ou l'épigallocatechine gallate et la caféine des feuilles de thé vert. Cette méthodologie est standardisée pour extraire des molécules de polarité proche en utilisant des fluides supercritiques.

Sirine ATWI-GHADAR (ICOA, UMR 7311 Université d'Orléans-CNRS)

« Le colloque Biotechnocentre m'a permis de rencontrer et discuter avec des scientifiques de domaines variés, et par la suite de voir des sujets qui sortent de notre quotidien de recherche en stimulant notre curiosité et notre intérêt. De plus, le cadre convivial couplé à l'ambiance de l'événement ont permis de discuter et présenter nos résultats naturellement à un public divers. »

• Prix « Affiche » Filière C

Le composant Tho2 du complexe THO participe au contrôle de la qualité des mRNP nucléaires de la levure par le biais du recrutement de Rrp6

Chez les eucaryotes, les ARN naissants sont recouverts de diverses protéines et transformés en particules de ribonucléoprotéines messagères (mRNP) compatibles avec l'exportation. Les mRNP aberrantes qui ne passent pas les étapes de contrôle qualité sont retenues dans le noyau et éliminées par l'activité exonucléase 3'-5' de la sous-unité Rrp6 de l'exosome. La détection des événements de formation de mRNP défectueux et le ciblage consécutif de ces transcrits aberrants par Rrp6 ne sont pas encore clairs, bien que quelques acteurs potentiels aient été



identifiés. Un élément clé de la formation des mRNP est le complexe THO, un complexe eucaryote conservé important pour l'élongation de la transcription et le traitement de l'ARN, dont la perturbation entraîne une accumulation de mRNP aberrantes dans le noyau. Dans ce travail, nous avons étudié le recrutement à l'échelle du génome des sous-unités du complexe THO (Tho2, Thp2, Hpr1 et Mft1) lors d'une perturbation globale de la biogenèse des mRNP induite par l'expression de l'hélicase bactérienne Rho dans des cellules de levure. Ce travail montre que Tho2 est nécessaire



au recrutement de Rrp6 et au contrôle qualité des mRNP nucléaires via son domaine C-terminal (CTD), indépendamment des autres sous-unités du complexe THO. Nous proposons un modèle dans lequel Tho2 contribue à la détection et au ciblage des mRNP aberrantes par l'exosome.

Valentin BEAUVAIS (CBM, UPR4301 CNRS, Université d'Orléans)

« Beaucoup de conférences de qualité et qui permettent de découvrir les sujets intéressants des chercheurs de la région et d'ailleurs. C'est également l'occasion idéale pour échanger avec nos confrères et consœurs doctorants, sur des sujets scientifiques ou non. »

• Prix « Affiche » Filière D

Raccourcissement de la période d'exposition des chevrettes aux boucs sexuellement actifs et conséquences sur la puberté

Les relations socio-sexuelles peuvent impacter l'âge de la puberté. Chez la chèvre, l'exposition continue à partir de juin à des boucs intacts (INT1), devenant naturellement sexuellement actifs en septembre, permet d'avancer d'environ 1.5 mois la puberté de femelles nées au printemps par rapport à des femelles isolées (ISOL) ou exposées à des mâles castrés (CAS). Notre étude a évalué si une exposition continue raccourcie à partir de mi-août à des mâles intacts (INT2), juste avant que ces derniers ne deviennent sexuellement actifs, permettait de retrouver cette activité ovulatoire précoce des femelles. Contrairement aux groupes ISOL et CAS, les deux groupes exposés aux boucs intacts (INT1 et INT2) ont rapidement ovulé sur une période de 10-11 jours après le début d'activité sexuelle des mâles (mi-septembre). Ainsi, l'exposition raccourcie de femelles à ces boucs est suffisante pour induire le phénomène d'avancée pubertaire. L'étude morphologique du tractus génital a montré un développement plus précoce chez les femelles exposées aux





boucs intacts. Une maturation plus précoce du réseau neuroendocrinien de la kisspeptine - neuropeptide important de la transition pubertaire – a également été observée chez ces femelles, particulièrement au niveau de la portion caudale du noyau arqué.

Maxime MEUNIER (PRC, INRAE, Université de Tours)

« Ce 34^e colloque était très intéressant de par la richesse des interlocuteurs invités mais également de la diversité des thématiques abordées. L'exercice de la présentation poster était pertinent et m'a ainsi permis d'engranger de l'expérience pour mes prochains congrès scientifiques. »

• **Prix « Affiche » Filière D**

« **Phénomènes physico-chimiques dans le transport atmosphérique des phéromones** »

La polyphagie est une stratégie adaptative permettant à des espèces de se développer sur différents types de substrats. Dans le cadre des interactions plantes-insectes, les hôtes varient en qualité nutritionnelle, et les insectes peuvent être exposés à des ressources sub-optimales. Les bactéries symbiotiques peuvent permettre aux insectes de mieux se développer sur ces ressources appauvries. L'espèce invasive *Drosophila suzukii*, capable d'utiliser une multitude de fruits en murissement ou mûrs, s'expose régulièrement à des hôtes non favorables. Or, la bactérie *Wolbachia*, retrouvée en prévalence variable dans les populations, pourrait contribuer à une meilleure survie sur ces substrats sub-optimaux. En effet, chez d'autres espèces, elle assure une complémentarité en fer ou en acide aminés. Le rôle de *wSuz*, la souche de *D. suzukii*, reste méconnu mais une interaction mutualiste a été évoquée. Grâce à des populations infectées et non-infectées par *Wolbachia* exposées à différents milieux de développement, nous avons pu montrer que *Wolbachia* améliore la survie des larves, impacte la fécondité et joue un rôle important dans la réponse à un stress nutritionnel. Mieux comprendre le rôle des symbiotes chez les espèces invasives permettra d'améliorer les stratégies de biocontrôle.



Gwenaëlle DECONNINCK (IRBI, CNRS-Université de Tours)

« *Biotechnocentre permet de rencontrer les autres doctorants de l'école doctorale, d'apprécier leurs*



thématiques de recherche et d'échanger sur nos parcours. Le colloque est aussi l'occasion de découvrir les sujets de recherche d'actualité et d'avenir qui sont réalisés dans la région. Le cadre champêtre de cette année a permis une ambiance décontractée parfaite pour favoriser les discussions. »

• **Prix « Affiche » Filière E**

Trop-2 targeting immunoliposome formulation as metformin drug delivery system

Our study focuses on antidiabetic drug metformin (Met) vectorisation in the context of triple negative breast cancer. We used liposomes as the drug carriers, as they have large aqueous compartment, favouring metformin encapsulation, as well as easily modifiable structure. With design of experiment method we found optimal formulation with reproducible, highly stable liposomes with Met encapsulation of 150 mg/g. Fluorescence microscopy of liposomes co-encapsulated with Met and cyanine 5.5 fluorophore showed that liposomes can



be found inside MDA-MB-468 cells, clustered inside the cytosol around cell nucleus. Moreover, cellular viability assay showed a time dependent effect of encapsulated metformin, indicating its ability to reduce cell proliferation. Additionally, we have showed that MDA-MB-468 highly expresses TROP-2 antigen, making it a suitable biomarker. Thus, we conjugated TROP-2 targeting single chain variable fragments (scFv) on the surface of liposomes through maleimide-cysteine binding. This conjugation did not have effect on



liposome physical properties, nor the functionality of antibody fragments. The higher absorbance signal of ELISA at the same lipid concentration for samples with higher initial scFv, indicated a probable higher scFv quantity per liposome.

Daiva VOZGIRDAITE (ISP, INRAE, Université de Tours)

« *This was my first Biotechnocentre that I have attended. I enjoyed the variety of discussed subjects, the level of expertise of the people who not only presented their subjects but gave a valuable insight for my own project. And once again, I would like to thank the team of Biotechnocentre and Green Pharma for the poster award. »*



Crédit Photos Jean-Louis Dacheux

Quelques instants choisis à la 2^e journée scientifique inter-réseaux

2^e journée scientifique inter-réseaux « Vigilance environnementale : détecter, prévoir, agir »

De par sa position aux interfaces de plusieurs disciplines scientifiques allant du domaine de la chimie du vivant à celui de la santé humaine en passant par ceux de la biologie sous toutes ses coutures et du Bien-Être, Biotechnocentre a été à l'initiative en 2021 dans l'organisation d'une 1^{ère} journée scientifique inter-réseaux en collaboration avec les RTR MotivHealth et FéRI intitulée « Tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur les coronavirus sans jamais oser le demander » (<https://www.canal-u.tv/chaines/lestudium/tout-ce-que-vous-avez-toujours-voulu-savoir-sur-les-coronavirus-sans-jamais-osser-et-http://www.biotechnocentre.fr/>). Avec 10 conférences de très haute facture et plus de 160 participants (sous la forme d'un webinaire), cette journée a été une véritable réussite. C'est pour cela que Biotechnocentre a souhaité renouveler cette action en 2023.

Depuis plus de 3 milliards d'années, notre planète terre accueille la vie. Elle a su offrir les conditions pour que l'homo sapiens, présent depuis environ 300 000 ans, y puise des opportunités pour assurer sa survie, sa reproduction et ses loisirs. Mais aujourd'hui, la planète fait face à de nombreux défis tels que le changement climatique, la perte de biodiversité, la pollution ou encore la dégradation des habitats naturels qui menacent la santé humaine, animale ainsi que les écosystèmes qui nous accompagnent. Une surveillance adaptée est donc un enjeu essentiel pour déterminer l'évolution de la qualité de l'environnement et définir des actions afin de prévenir ou réduire les conséquences négatives sur les biotopes et la santé et protéger les écosystèmes.

C'est sur ce thème de la Vigilance Environnementale que les réseaux thématiques de recherche (RTR) Biotechnocentre, Entomocentre et Milieux et Diversité (MiDi) ainsi que le programme de recherche Ambition-Recherche-Développement (ARD) Sycomore, soutenus par la Région Centre-Val de Loire, ont choisi d'organiser la 2^e journée scientifique inter-réseaux le 13 avril 2023 à l'INSA de Blois. La journée a été déclinée en trois axes : Détecter, Prévoir, et Agir. Rythmée par l'intervention de seize conférenciers reconnus et experts dans des domaines variés, elle a été l'occasion d'élargir nos connaissances sur une thématique complexe mais d'une actualité criante.

La session « **Détecter** » a mis en valeur les méthodes de détection et d'évaluation de la biodiversité, de la qualité des bois, des maladies émergentes chez les plantes, ou encore les systèmes d'alerte précoce des risques d'allergie au pollen. **Cécile Robin** de l'INRAE UMR Biodiversité Gènes et Communautés (BIO-GECO) s'intéresse à la détection précoce des pathologies fongiques forestières. En effet ces pathologies sont en augmentation depuis plusieurs années, elles doivent être détectées précocement pour permettre une lutte efficace. Une première approche consiste à utiliser le réseau de surveillance des pollens pour détecter les séquences codantes des spores de certains pathogènes (metabarcoding) dans les échantillons recueillis. Une seconde approche utilise les données fortuites recueillies par les citoyens ou les forestiers

2^{ème} Journée thématique Inter-réseaux
Organisée par les RTR Biotechnocentre, Entomocentre, MIDI et l'ARD Sycomore

- Vigilance environnementale -
détecter - prévoir - agir

Jeu. 13 Avril 2023 9h-17h (accueil à partir de 8h30)
INSA CVL, Salle de conférence de la Chocolaterie, Département Ecole de la Nature et du Paysage de l'INSA CVL, 9 rue de la Chocolaterie, 41000 BLOIS

© Benoit CASTANG @ CIM-CINIS-Orléans

avec comme exemple Vigil'encre, une application sur smartphone qui permet de signaler les châtaigniers atteints de l'encre du châtaignier. Ensuite, **Aurélien Sallé**, (Laboratoire Ligneux et grandes cultures-Univ. Orléans, INRAE USC 1328) replace les chênes du Val de Loire dans leur contexte d'excellence en produisant le bois de tonneau ; malheureusement le changement climatique les a rendus sensibles aux insectes (*Ambrosia beetles*) et aux champignons vivant en synergie avec ces insectes. Ces ravageurs opportunistes performent leurs bois jusqu'au cœur provoquant des « piques » ; dépréciant les merrains. Aussi le projet « DEPRECIATEUR » s'entache à cerner les paramètres environnementaux de ces intrusions et leurs protagonistes ainsi que de déterminer les moyens de les contrecarrer voire de les anticiper. L'ampleur des dé-

gâts peut s'évaluer à l'aune des études biochimiques (profil métabolique) et moléculaires (metabarcoding) des sciures produites par les ravageurs. **Stéphane Boyer** (Pr IRBI, Univ. Tours) a terminé la session sur les moyens de veiller à l'environnement en nous faisant part de son expérience personnelle. Un grand pas fut franchi par l'approche moléculaire qui par sa puissance détecte de nouvelles espèces animales même si elles sont peu représentées. Ces méthodes se démocratisent peu à peu, à telle enseigne que l'on pourra pratiquer bientôt *in situ*, une amplification, par un laboratoire portatif (mini PCR) et en utilisant son mobile et pratiquer une analyse en reconnaissant des séquences miniatures. À noter, l'exploitation de l'ADN environnemental présent dans les fèces des animaux prédateurs universels aussi bien terrestres qu'aquatiques. La puissance de ces analyses est telle qu'elle a permis de détecter en Nouvelle-Zélande des vers de terre qui enfouis dans la terre la journée, ne remontaient à la surface du sol que la nuit et qui donc passaient inaperçus des chercheurs ; les escargots ingéraient les vers la nuit ce qui expliquait la présence de leurs ADN dans les fèces des escargots. **Frédéric Gosselin**, de l'équipe Ecosystèmes Forestiers de l'INRAE à Nogent-sur-Vernisson, a élaboré un projet de suivi de la biodiversité forestière PASSIFOR 2, en lien avec le programme de surveillance de la biodiversité terrestre mis en place en 2018 par l'Office Français de la Biodiversité. Le programme PASSIFOR 2 a abouti à la mise en place de dispositifs pour suivre la biodiversité en forêt à l'échelle de la France métropolitaine. Ce travail a permis de proposer en particulier quelle biodiversité suivre en priorité, comment réaliser les plans d'échantillonnage et comment analyser les données de ces suivis. En parallèle, les liens avec les politiques de gestion et avec la gouvernance de ces suivis ont été soulignés. **Nicolas Viovy** (LSCE) a présenté des outils permettant d'anticiper le risque d'allergie au pollen à court – de quelques jours à quelques mois et à long terme (2050) tout en évaluant concomitamment des polluants aggravant ce risque (N₂O, Ozone et particules fines, PM 2.5). Un autre facteur aggravant est représenté par le climat et son évolution qui impacte la croissance des plantes. Dans le projet ATOPICA les émissions journalières de pollen de l'ambrosie ainsi que son extension territoriale ont conduit à une émission de 10 grains/m³. En 2050, l'effet conjugué du climat et de l'expansion de l'ambrosie portera l'émission de pollen à 150 grains/m³. Incidemment, on connaît la dose seuil de 700 gr/m³ à même de déclencher les allergies. L'idéal serait de se doter d'instruments automatiques qui récolteraient et identifieraient les pollens en continu. Ainsi une surveillance en temps réel, serait un meilleur garant de prévention et correction du risque (projet PREVIPOL). **Cécile Vincent-Barbaroux** du laboratoire de biologie des ligneux et des grandes cultures (LBL-GC) INRAE USCI 1328 Orléans, développe des mé-

thodes de détection précoce à large échelle du dépérissement forestier en région Centre-Val-de-Loire, le projet RECONFORT. Un modèle de détection efficace de dépérissement des chênaies a été développé en croisant des images satellites avec des données obtenues sur le terrain (placettes de relevés du protocole DEPERIS). En utilisant deux bandes spectrales particulières sur les images satellites, il est possible de détecter ce dépérissement avec une précision de 80 %.

La session « **Prévoir** » nous a proposé des méthodes de modélisation adaptées soit à la prévision des risques émergents liés aux insectes forestiers, soit à la prévision des épisodes de pollution. Au cours de cette session ont été également abordés : (i) le choix des espèces forestières à privilégier selon les régions dans le contexte du changement climatique et (ii) l'existence d'inégalités socio-environnementales et sur les politiques publiques à mettre en place pour les réduire. **Christelle Robinet** et **Jérôme Rousselet** de l'unité de recherche de zoologie forestière (URZ, INRAE Centre-val-de-Loire) cherchent à prévoir les cycles annuels des insectes urticants comme la processionnaire du pin, qui étend son aire de répartition vers le nord. Un premier outil est l'utilisation de Google Street View, qui permet de circuler virtuellement sur de grandes zones géographiques et de détecter les nids de ces chenilles. Un second outil est une modélisation du cycle biologique des chenilles en prenant en compte les températures observées. **Yves Rousselle** (UMR ONF/INRAe BIOFORA, Orléans) et **Éric Sevrin** (CNPF-IDF, Orléans) rappellent que pour repeupler une forêt on utilise des graines sélectionnées suivant leurs phénotypes ; bien que pas toujours adaptées et notamment à cause de changement climatique, ces graines (60 espèces) figurent sur des fiches orientant le choix des matériels forestiers de reproduction ; en déterminant 3 variables supposées limitantes pour les essences forestières (manque d'eau, excès de froid et manque de chaleur), les auteurs caractériseraient les zones de reboisement suivant les variables climatiques. Force est de constater qu'en déplaçant ces graines on réalise que des sauts de puce. **Jérôme Rangognio** (Lig'Air, <https://www.ligair.fr/>) rappelle en préambule, que surveiller la qualité de l'air est une nécessité dans la mesure où nous inspirons quotidiennement 15 m³ d'air/jour alors qu'on ne boit qu'1,5 l. Lig'air a comme mission de surveiller tout le territoire Centre-Val de Loire pour -au vu des données- anticiper les épisodes de pollution à fort impact sur la santé (pollen, ozone et particules en suspension, etc). Aussi, de nombreuses stations d'observations fournissent chaque jour leurs lots de résultats d'analyses de l'air qui sont modélisés pour prévoir et identifier les zones où les valeurs réglementaires sont dépassées. **Sara Robert** du même organisme nous a présenté deux outils, l'un TRACE

(Air-climat-Energie) pour la production de données transversales lequel est complété par VACARM (validation des cartes de modélisation), l'un et l'autre outil, permettant notamment la prévision sur les 48h de l'évolution des indices de qualité de l'air, une avance suffisante pour parer aux dangers. Pour finir la session et introduire la suivante, **Séverine Deguen** (équipe PHARes INSERM CIC 1401, Bordeaux) plaide pour une justice environnementale, un environnement également sain pour tous. Cette équité repose sur la réduction du différentiel d'exposition aux nuisances ainsi que sur celui de la vulnérabilité liée à la défaveur du milieu socio-économiques. Pour cibler les actions en Santé des indicateurs sociaux environnementaux sont placés sur les lieux d'exposition (travail et résidence), enregistrant sur plusieurs années (effet cumulatif) et évaluant les polluants atmosphériques dont le plus toxique, N_2O , quoique son niveau ne soit pas toujours lié à un groupe socio-économique. La complexité des facteurs néfastes environnementaux auxquels peuvent s'ajouter un statut socio-économique défavorisé ouvre un large champ de recherche où chercheurs et porteurs d'action sur le terrain œuvreraient de conserve dans des futurs projets d'envergure.

La troisième et dernière session « **Agir** » a proposé des exposés décrivant des actions mises en œuvre pour la réhabilitation des sols contaminés ou pour favoriser la biodiversité en milieu urbain en interaction avec la société. Elle a abordé également les travaux visant à démontrer les effets potentiels de certains pesticides sur la santé humaine et la mise en place de réglementation quant à leur usage. **Laurence Huc** (DR INRAe, LISIS, UMR CNRS INRAe Uni.Eifel, Marne-la-Vallée) nous a fait plonger dans les arcanes des processus connus de la cancérisation, incluant les substances de l'environnement. Ce sujet faisait suite au constat de cancer de la prostate chez les ramoneurs (suie) ou encore de l'influence du tabac et de l'alcool dans les cancers du fumeur. Nombreux sont les agents de l'environnement qui peuvent venir perturber les circuits métaboliques d'une cellule saine pour la transformer en cellule cancéreuse, soit exogènes (benzopyrene, dioxine et fongicide) soit endogènes (composés intestinaux néoformés). On soupçonnait la nature cancérogène de la famille des inhibiteurs de la succinate-deshydrogénase présents dans de nombreux fongicides car les humains présentant une version mutée du gène codant pour cette enzyme souffrent de cancer. A la différence des substances déclarées cancérogènes, si on ne connaît

pas le mécanisme de cancérisation, les substances sont déclarées par l'IARC (International Agency for Research on Cancer) cancérogène probables avec pour conséquence de limiter leur exposition dans l'environnement. En Europe, l'EFSA (European Food Safety Authority) évalue le risque cancérogène d'une substance en y adjoignant la génotoxicité par l'étude des données de la littérature scientifique et de celles fournies par les industriels. Caractériser le pouvoir cancérogène d'une substance exogène est difficile soit qu'elle est présente en dose faible dans un mélange complexe (35 substances p. ex. dans une pomme) ; soit qu'on ait l'indication dans une zone circonscrite de cancers mais que les facteurs sont très nombreux. A titre d'exemple, la conférencière nous a mentionné l'étude en cours de cancers pédiatriques autour d'une école (Ste Pazane) dans laquelle on relève des concentrations élevées de lindane, radon et dieldrine. En conclusion, le modèle de cancérisation D. Hanahan, 2011 reste en toile de fond car il se résume aux déviations de l'exposome (épigénétique) se répercutant sur le génome qui induit un cancer. **Domenico Morabito** du laboratoire de biologie des ligneux et des grandes cultures (LBLGC) INRAE USCI 1328 Orléans a illustré une approche de la dépollution des sols (anciens sites miniers) par les métaux lourds par une méthode de phytomanagement. Le but de cette approche est de fixer dans les végétaux (arbustes) les éléments toxiques du sol, pour empêcher leur diffusion dans l'air et le sol et leur interaction avec les populations vivantes. Il a été observé que l'amendement en biochar (Biocharbon obtenu par pyrolyse de matières végétales) entraînait une meilleure immobilisation des produits toxiques et une meilleure absorption et fixation sur les végétaux. Pour finir, **Sébastien Bonthoux** Sébastien Bonthoux, de l'UMR CNRS CITERS et de l'INSA Centre-Val-de-Loire nous a illustré un exemple pratique d'interaction entre la diversité végétale d'un parc urbain de Blois géré de façon extensive avec la perception des habitants et les gestionnaires du site. L'équilibre entre une gestion extensive, qui crée des milieux à biodiversité élevée, et le ressenti des habitants est important à respecter, et cette perception est d'autant plus positive que les lieux restent suffisamment accessibles au public. L'évolution esthétique de ces nouveaux environnements est généralement appréciée du public. L'implication de chaque niveau de fonctionnement des gestionnaires, en particulier des agents de terrain, est importante pour obtenir un fonctionnement harmonieux et pérenne.

Cette journée scientifique inter-réseaux a été d'une richesse exceptionnelle en informations et nous a convaincus de l'intérêt d'un dialogue plus approfondi entre les grandes thématiques scientifiques animées au travers des RTR de la Région Centre-Val de Loire. Restons vigilants pour notre environnement !

H.S., C.A. & B.C.

Trois questions à Livio Casarini, chercheur « Le Studium »



- Who are you ? What is your background ?

My name is Livio Casarini and I am associate professor of translational endocrinology at the University of Modena and Reggio Emilia (Modena, Italy). After having obtained the Ph.D. in evolutionary biology, in the year 2009, I was lucky to join the Unit of Endocrinology as a postDoc fellow, under the supervision of a World expert such as my mentor, Professor Manuela Simoni. There, I spent about 10 years of research in the field of sex hormone physiology and endocrinology of reproduction. During that time, I had the occasion to know other experts,

improve my expertise in the field and import concepts from evolutionary biology into the world of endocrinology. Now I am team leader of the basic research Unit in sex hormone physiology and supervise fifteen people, among PostDocs, PhDs and Master Degree students.

LE STUDIUM

Loire Valley
Institute for Advanced Studies

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

My research Group has an established collaboration with the INRAE Center-Val de Loire, due to common interests in the field of sex hormone functionings. Several other Erasmus+ students, PhDs, fellows and visiting researchers moved from Modena to Tours in the past 10 years, and we have published about ten scientific papers together, indicating the strength of the collaboration between the two Units. Recently, we were granted by the Bill and Melinda Gates Foundation to develop together a non-hormonal contraceptive approach based on the use

of nano-antibody fragments targeting sex hormone receptors in the gonads. This project provided the precious occasion to come at the Centre Val de Loire, greatly supported by the LE STUDIUM Biopharmaceutical programme, and work together with the French colleagues, especially Dr Eric Reiter, Dr Frederic Jean-Alphonse and Prof. Pascale Crepieux. I am very proud to have the opportunity to exchange our scientific knowledge and learn new technical approaches to the research in our field. Thanks to this fellowship, I would like to strengthen this collaboration, participate to an EU call for project and organize a World meeting of expert in the field. I am sure that this experience will be very important for my personal scientific growth and future career in research.



BIOMÉDICAMENTS
La dynamique Innovation Santé
EN CENTRE-VAL DE LOIRE

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

As I have already a well-established collaboration, I envisage that further common projects in the field of reproduction will start and maintain a solid partnership between my Unit and the INRAE group. Moreover, other fellows will join the Centre Val de Loire, where they will have the occasion to do research in a stimulating scientific environment, under the supervision of expert scientists and advanced laboratories.

I think that this collaboration will offer even more opportunities to gather funds and achieve ambitious scientific, common goals in the future. Not less important, I would like to continue supporting young fellows in their early career in an international environment that such Units like INRAE and Modena may offer.

Propos recueillis par AM & col



Pr Livio CASARINI

LE STUDIUM Loire Valley Institute for Advanced Studies,

*Physiologie de la Reproduction et des Comportements
INRAE UMR85, CNRS UMR7247,
Université de Tours*

Interview de Lucie Pellissier, médaille de bronze du CNRS 2022



Lucie Pellissier a reçu la médaille de bronze du CNRS en 2022 et a été sélectionnée pour une bourse ERC starting pour le projet « therautism ». Lucie est Chargée de recherche CNRS depuis octobre 2017 dans l'unité Physiologie de la reproduction et des comportements à Nouzilly dans l'équipe « BIologie des systèmes de Signalisation des RCPGs » qu'elle anime avec Romain Yvinec.



Qui êtes-vous ? Quel est votre parcours ?

Mon nom est Lucie Pellissier et je suis une chercheuse CNRS dans l'UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements (PRC), ayant pour tutelle l'INRAE, le CNRS et l'université de Tours. Notre UMR est située sur le Centre INRAE Val de Loire à Nouzilly. Je suis née dans la Vallée de Chevreuse, et après 20 ans en région parisienne dont un DEUG en biologie-chimie à l'Université d'Orsay-Paris XI (à l'époque), j'ai continué mes études à l'université de Montpellier à partir de 2002. Je me suis rapidement orientée en neurobiologie car j'ai toujours été fascinée par le fonctionnement du cerveau. Au cours de mes études, je me suis rendue compte que j'aimais la recherche fondamentale, mais avec une visée appliquée aux maladies neurodéveloppement-

tales et neurodégénératives. J'ai ainsi effectué ma thèse à l'Institut de Génétique Fonctionnelle, sur les applications potentielles de l'activation d'un récepteur à la sérotonine de 2005 à 2009. Mon doctorat de neurobiologiste moléculaire en poche, j'ai rejoint l'Institut Néerlandais des Neurosciences (NIN) pendant six années pour mener la première étude de thérapie génique pour les dystrophies rétiniennes liées au gène CRB1, lors de mon premier postdoctorat. Suite à la valorisation de ces travaux, j'ai voulu revenir en France, notamment pour postuler aux concours de chargé de recherche. C'est ainsi que j'ai effectué mon deuxième postdoctorat à la PRC, à partir de 2015, sur le récepteur à l'ocytocine et son implication dans la modulation des comportements sociaux.

Pourquoi avez-vous choisi le CNRS pour poursuivre vos recherches ?

Quelles sont les circonstances qui vous ont amené à postuler pour un poste CNRS au laboratoire Physiologie de la reproduction et des comportements de l'INRAE à Tours ?

Postuler au CNRS a été un choix très naturel et logique. C'est d'abord un choix logique car j'ai toujours fait partie de laboratoires sous la tutelle du CNRS en France. Mais c'est ensuite un choix naturel pour la vision fondamentale de l'institut et la liberté des thématiques de recherche que l'on peut y mener. Lors de mes recherches pour un second postdoctorat en France, je n'avais pas peur de changer de thématique une nouvelle fois et je voulais un sujet de recherche qui me passionnerait pour de nombreuses années. J'ai vu une offre sur la signalisation des récepteurs cou-

plés aux protéines G (le récepteur à l'ocytocine), qui couplait mes premiers intérêts de recherche, lors de mon doctorat, tout en me plongeant dans la diversité et la complexité de l'étude des comportements sociaux et leurs déficits, notamment dans les troubles du spectre de l'autisme. De plus, géographiquement, la Touraine étant proche de Paris, tout en étant une ville de taille moyenne, cela me paraissait idéal pour mener à bien ma vie de famille avec deux enfants et mes recherches. J'ai donc postulé et, six mois plus tard, en février 2015, j'ai démarré mes travaux de recherche à la

PRC. Après une première tentative de concours, j'ai été recrutée en 2017 en tant que jeune chercheuse dans la section 28 (Pharmacologie - ingénierie et technologies pour la santé - imagerie biomédicale) qui illustrent parfaitement mes projets de recherche. En effet, les mots clés de cette

section qui correspondent à mes travaux sont les suivants : l'identification de cibles thérapeutiques et de biomarqueurs, la pharmacologie (moléculaire, cellulaire, intégrative, comportementale), les biothérapies et la vectorisation. J'ai d'ailleurs eu l'immense surprise et honneur de recevoir la médaille de bronze du CNRS en 2022, sur proposition de ma section de rattachement. J'effectue mes travaux de recherche au sein de l'équipe pluridisciplinaire biologie des systèmes de signalisation des RCPGs (BIOS) regroupant une trentaine de personnes qui m'apporte énormément, tant sur le côté scientifique que le côté humain. Je suis co-responsable de l'équipe depuis janvier 2021 pour la biologie, avec Romain Yvenc pour les maths !



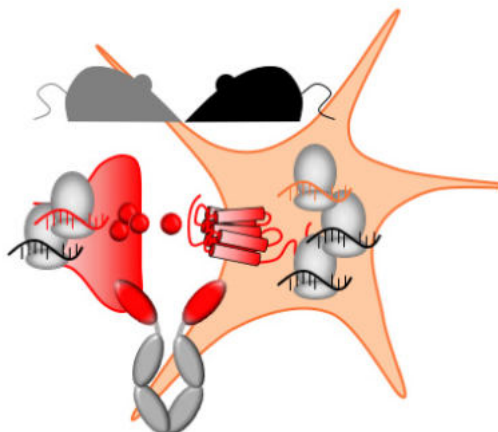
Repas de l'équipe BIOS (octobre 2021)

Quels sont les axes des projets de recherche que vous souhaitez développer à Tours et comment s'inscrivent-ils dans le projet global de votre laboratoire d'accueil et plus largement dans l'environnement scientifique de la région Centre-Val de Loire ?

Suite à mon recrutement au CNRS, afin de financer mes recherches, j'ai commencé par répondre à différents appels d'offre de financements à la région (APR-IR), à l'ANR, à l'ERC. D'ailleurs, je ne remerciais jamais assez une de mes collègues qui m'a encouragée à postuler à l'ERC, qui elle-même était financé par une ERC Starting grant. Etant en limite du nombre d'années après la thèse, c'était ma dernière chance de postuler à l'ERC Starting grant. De façon surprenante, seule l'ERC a retenu ma proposition et finance mes travaux, suivi par le fond Post-agreenskills INRAE (ex-programme Marie Curie de l'INRAE dirigé par Gilles Aumont) sur des versants appliqués aux animaux de ferme. Enfin, le

LabEx MAbImprove entre Tours et Montpellier sur le développement d'anticorps thérapeutiques soutient mes travaux par le co-financement avec l'ERC des deux thèses que je dirige actuellement.

J'ai trois axes scientifiques complémentaires de recherche. Le premier axe vise à mettre en



erc
 European Research Council
 Established by the European Commission

évidence quels sont les différents facteurs intrinsèques et environnementaux qui régissent les compétences sociales, et leurs conséquences à l'échelle moléculaire. En d'autres termes, je cherche à identifier les marqueurs moléculaires de l'interaction sociale. Du premier axe, découle le deuxième axe sur la compréhension des événements moléculaires et cellulaires menant à la dérégulation de ces marqueurs moléculaires dans des modèles murins de déficits de l'interaction sociale (troubles du spectre autistique, isolement social, déséquilibre du bien-être animal). Je cherche à déterminer si ces marqueurs sont des cibles thérapeutiques intéressantes et éventuellement des biomarqueurs de déficits de l'interaction sociale. Enfin, notamment grâce à la richesse des modèles sur notre centre et à l'INRAE, je vérifie si ces cibles sont robustes et conservées chez les oiseaux et d'autres mammifères, incluant l'Homme. Ces travaux sont une des thématiques phares de notre UMR. En effet, ces travaux financés par le fond Post-agreenskills INRAE sont effectués en collaboration avec les quatre équipes « comportement/neuroendocrinologie », mais également avec l'UMR BOA sur le Centre INRAE Val de Loire et l'UMR GenPhyse à Toulouse.

Le troisième axe, en se basant sur les connaissances générées dans les deux premiers axes, vise à développer les approches thérapeutiques pharmacologiques et comportementales les plus adaptées à chaque type de cibles pour restaurer les interactions sociales et l'expression de ces marqueurs moléculaires. Dans cet axe, nous développons et utilisons notamment des fragments d'anticorps spécifiques du récepteur à l'ocytocine et de la protéine de plasticité Arc, puis nous les vectoriserons pour une administration optimale in vivo. Cet axe s'inscrit parfaitement dans les questions développées au sein du LabEx MAbImprove, mais également dans toute la dynamique régionale forte autour des biomédicaments. Mes travaux se trouvent enrichis par les compétences et discussion des équipes du LabEx, notamment sur la sélection et l'effet des anticorps sur leur cible, leur reformatage, leur vectorisation et leur administration in vivo. Grâce à cette dynamique, je bénéficie du soutien d'un consortium Le Studium sur la protéine de plasticité Arc dont la première réunion a eu lieu du 17-19 avril 2023 et qui devrait donner lieu à la création d'un réseau européen.



Crédit Photo Karine Raynaud

Contact : Lucie P. PELLISSIER

Physiologie de la Reproduction et des Comportements

INRAE UMR85, CNRS UMR7247, Université de Tours

Centre INRAE Val de Loire

37380 Nouzilly

Mèl : lucie.pellissier@inrae.fr

lucie.pellissier@cnr.fr

Tél : 02 47 42 79 62

De la pervenche aux levures : une nouvelle histoire de bio-production des *Vinca* alcaloïdes anticancéreux racontée par Vincent Courdavault



À l'heure de la mise en œuvre du plan de relance France 2030 et du déploiement des approches de bioproduction, la sécurisation de l'accès à de nombreux anticancéreux d'ancienne génération (dérivés du taxol, camptothécine ou *Vinca* alcaloïdes notamment) reste plus que jamais d'actua-

lité. Les récentes pénuries de vinblastine et vincristine, célèbres *Vinca* alcaloïdes issus de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) en sont le parfait exemple (Figure 1A-D). Si l'approvisionnement en ces composés repose aujourd'hui encore exclusivement sur l'exploitation des pervenches cultivées à grande échelle en Inde, la variabilité des teneurs alcaloïdiques in planta, la diminution des surfaces arables tout comme le nouveau contexte international imposent de changer de paradigme et de développer de nouvelles stratégies de synthèse. Parmi celles-ci, la création de cellules-usines de levure assurant la bioproduction des composés d'intérêt, suite à un transfert de gènes, s'avère être une approche de choix, à l'instar de la synthèse de l'antipaludéen artémisinine chez *Saccharomyces cerevisiae*, exploitée par le groupe Sanofi (Figure 1E) ^{ref 1}.

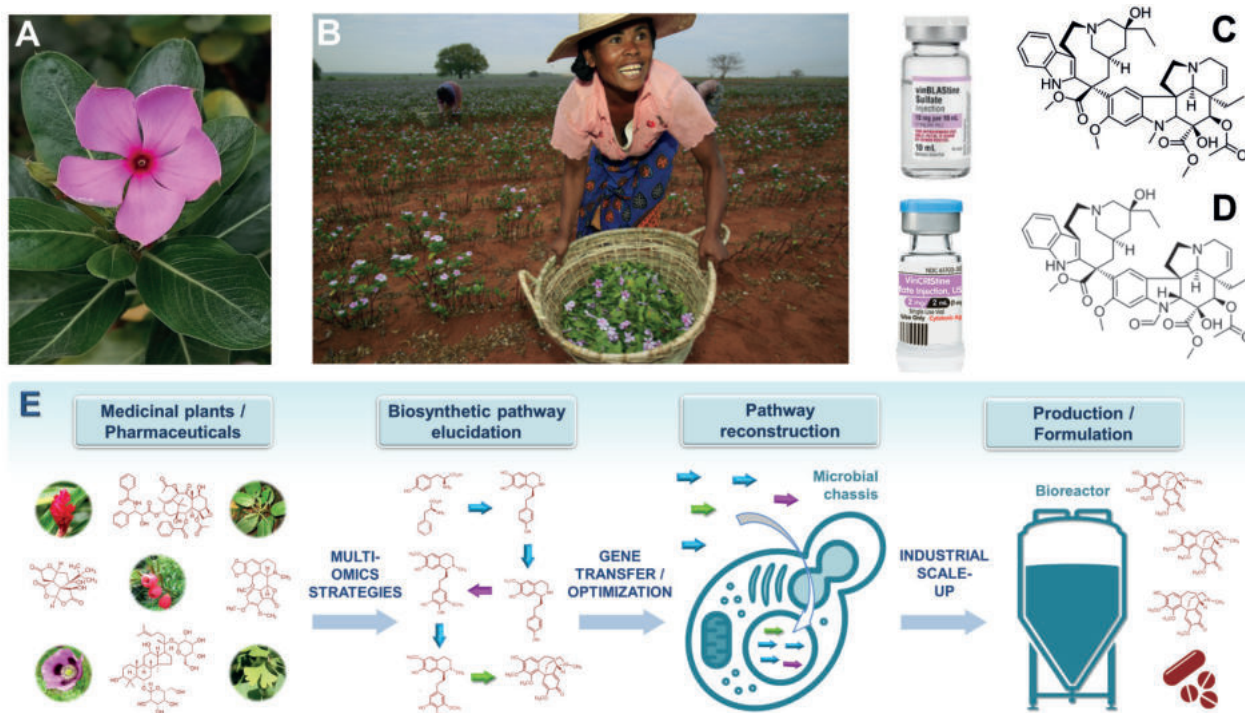


Figure 1 : La pervenche de Madagascar (A), sa culture à grande échelle en Inde (B) pour assurer la production des *Vinca* alcaloïdes anticancéreux vinblastine (C), vincristine (D), et les stratégies de création de cellules usines pour les bioproductions (E). La production de ces composés repose encore sur l'exploitation exclusive de la plante. Ainsi, les feuilles récoltées sont utilisées pour la purification des deux précurseurs vindoline et catharanthine qui subissent une condensation par hémisynthèse pour former les composés actifs. Néanmoins, ce mode de production est hautement variable et nous expose à des pénuries récurrentes.

1. Des origines lointaines à consonance française

Bien qu'originaire de Madagascar, l'histoire moderne de la pervenche du même nom débute en Jamaïque, où les tisanes de ses feuilles avaient la réputation de présenter des effets antidiabétiques. En 1952, vingt-cinq de ses feuilles furent ainsi envoyées au Dr. Robert Noble (University of Western Ontario,

Canada) pour en caractériser les propriétés biologiques. Si l'extrait foliaire correspondant administré par voie orale n'abaissait pas le taux de sucre dans le sang des rats traités, une injection intrapéritonéale amenait leur décès rapide par septicémie, conséquence d'un effondrement du taux de granulocytes.

Ce résultat fondateur suggéra ainsi une utilisation possible d'extraits de pervenche dans des traitements anticancéreux, en particulier en cas de leucémie. Six ans plus tard, la collaboration avec le Dr. Charles Beer permit d'important travaux de caractérisation de la composition des feuilles de pervenche et l'isolement d'un alcaloïde indolique monoterpénique (AIM - ici *Vinca* alcaloïde) responsable des activités observées et qui fut dénommé vinblastine. C'est à cette même période que le laboratoire pharmaceutique américain Eli Lilly isola un autre *Vinca* alcaloïde extrêmement actif, la vincristine, présentant des effets antimitotiques similaires (inhibiteurs de l'assemblage de la tubuline en microtubules) expliquant leurs propriétés anticancéreuses. Toutefois, il est important de préciser que vinblastine et vincristine ne sont accumulées qu'à l'état de traces chez la pervenche, empêchant de fait leur extraction à grande échelle. Il faudra alors attendre une dizaine d'année et les travaux de Pierre Potier (DR CNRS,

Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette) pour relever un premier succès d'approvisionnement de ces molécules actives. Suivant une démarche biomimétique, il entreprit de synthétiser la vinblastine par condensation de ses deux précurseurs nommés vindoline et catharanthine, aboutissant ainsi à un dépôt de brevet sur cette hémisynthèse en 1978. La vindoline et la catharanthine étant très hautement accumulées dans les feuilles de la pervenche, l'utilisation à grande échelle des *Vinca* alcaloïdes dans les traitements anticancéreux pouvait alors débiter. Ces travaux de renommée mondiale inspirèrent de nombreux chercheurs de la communauté végétaliste, notamment ceux du laboratoire EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales de l'Université de Tours qui entreprirent dès le milieu des années 1980 de bioproduire des alcaloïdes dans des cultures cellulaires de pervenche de Madagascar.

2. Les approches « omiques » et la révolution de l'élucidation des voies de biosynthèse

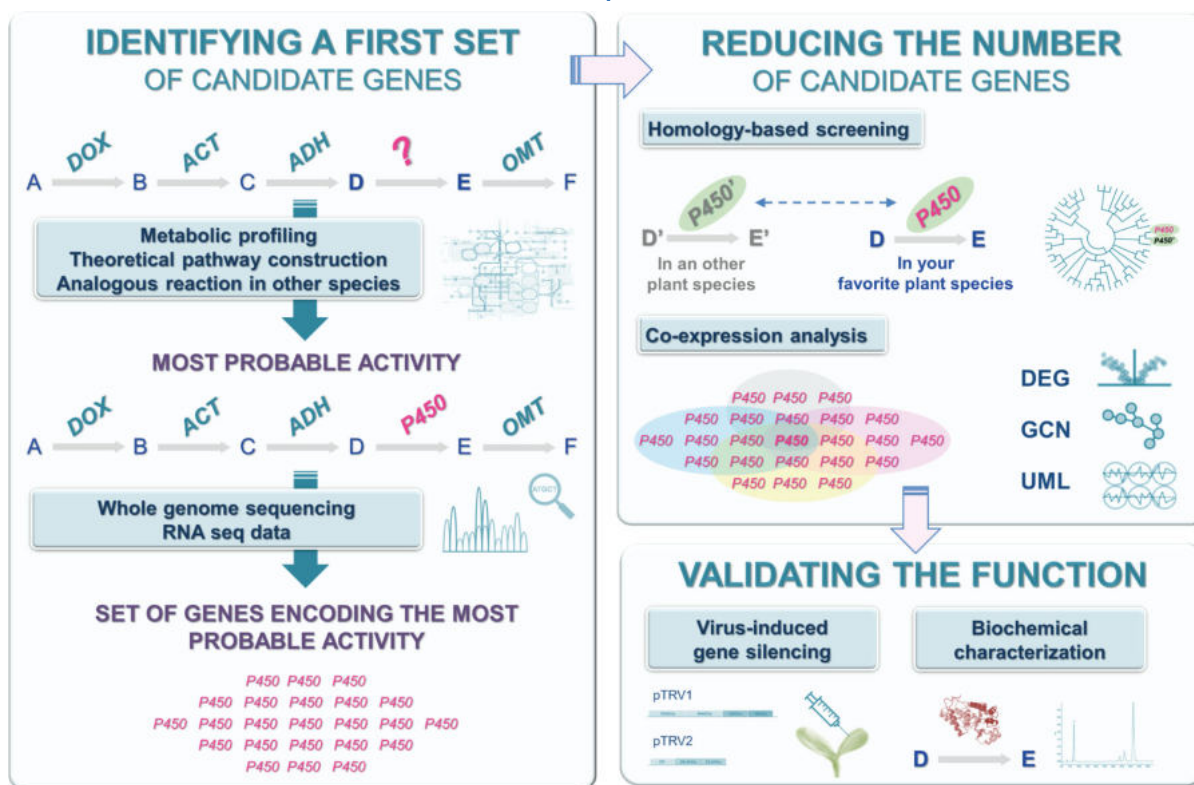


Figure 2 : Stratégie d'identification des gènes assurant les étapes manquantes des voies de biosynthèse des AIM. Le processus d'identification nécessite une compréhension/prédiction approfondie des possibles réactions enzymatiques assurant la transformation d'un précurseur A en un AIM final F via les intermédiaires B, C, D et E. Ces conversions peuvent impliquer des enzymes déjà caractérisées telles que des dioxygénases (DOX), acyltransférases (ACT), alcool déshydrogénases (ADH) ou O-méthyltransférases (OMT). Cet exemple illustre donc l'identification d'une étape enzymatique convertissant l'intermédiaire D en E. Ainsi, des données précédentes ayant montré que E est une forme hydroxylée de D, il est attendu que cette hydroxylation soit catalysée par une cytochrome P450 monooxygénase. La première étape consiste donc à identifier les gènes codant les P450 dans un set de gènes prédictifs issus de données transcriptomiques (RNA-seq) ou d'un séquençage de génome. Il en résulte généralement une longue liste de candidats qui nécessiteront d'être priorisés selon des recherches d'identité avec des gènes/enzymes déjà connus pour effectuer des réactions similaires ou surtout des approches « coupable par association » reposant sur la similarité de profil d'expression avec les gènes déjà connus de la voie. Ce type d'analyse peut s'appuyer sur l'étude de gènes différentiellement exprimés (DEG), les réseaux de coexpression (GCN) ou encore des approches de machine learning non supervisées (UML). Les gènes candidats sont ensuite validés fonctionnellement par des approches de VIGS (pTRV1 et pTRV2 constituent les plasmides codant les deux composants du génome du tobacco rattle virus utilisé dans ce type d'approche) et par des tests biochimiques subséquents.

Bioproduire des molécules végétales complexes requiert très généralement d'approfondir la connaissance des mécanismes moléculaires associés à ces synthèses au sein des plantes et plus spécifiquement d'élucider les gènes qui constituent les voies de biosynthèse des molécules ciblées. Dans le cas des AIM qui découlent de l'une des voies les plus complexes du métabolisme spécialisé des végétaux, ces élucidations restèrent rares jusqu'au début des années 2010 et la généralisation des approches de transcriptomiques massives. En combinant les données RNA-seq disponibles chez *C. roseus* et en en produisant de nouvelles (ex : conditions de folivorie), le laboratoire BBV pu ainsi reconstituer un premier transcriptome consensus issu de cette plante, regroupant les niveaux d'expression de plus de

30000 gènes de la plante dans 80 conditions expérimentales. En se basant sur le postulat que des gènes participant à un même processus physiologique (ici une voie de biosynthèse) devaient présenter de fortes similarités d'expression, BBV initia la recherche de gènes candidats de la voie de synthèse des AIM par une approche dite « coupable par association » telle que décrite en **Figure 2**. Celle-ci repose sur l'utilisation de gènes AIM déjà connus comme appât pour identifier des gènes présentant des profils d'expression les plus similaires possible. Il en résulte, dans le meilleur des cas, la sélection de plusieurs centaines de gènes candidats dont la fonction doit être criblée/validée par des approches de génomique fonctionnelle haut-débit. En effet, la recherche de candidats basée sur l'homologie (niveau d'identité maximale

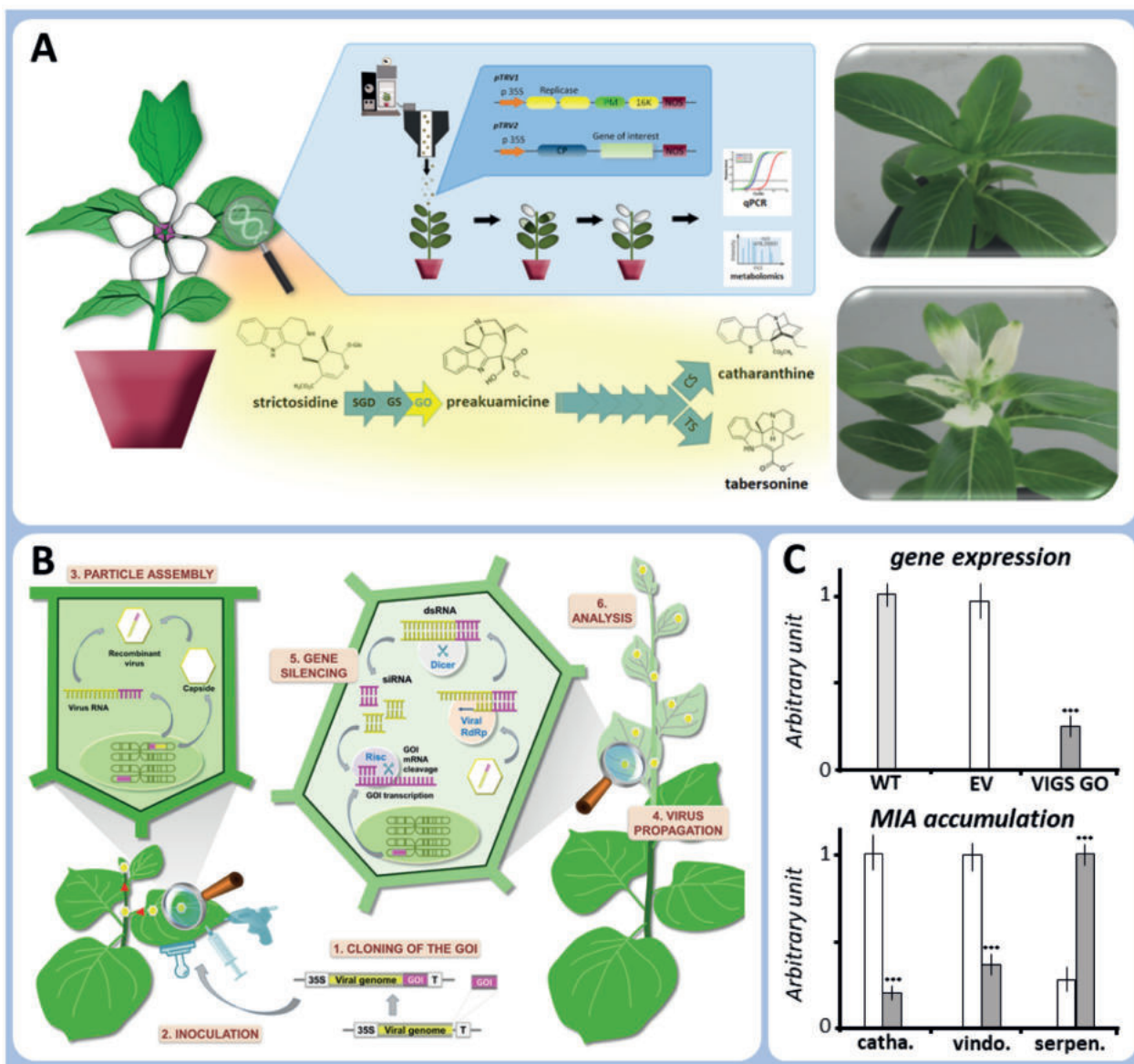


Figure 3 : Procédure de virus-induced gene silencing (VIGS) appliquée à la pervenche de Madagascar et utilisation pour l'identification de gènes de biosynthèse des AIM. (A) Principe général du VIGS montrant l'inoculation des génomes viraux (pTRV1 et pTRV2) dans les pervenches par des approches de biolistique. La partie droite haute montre une pervenche inoculée par un virus vide (absence de symptômes) tandis que la basse montre une plante silencieuse pour le gène codant la phytoène désaturase, impliqué dans la synthèse des pigments et dont le silencing cause le blanchissement des feuilles. (B) Principe moléculaire du VIGS pour la dégradation des transcrits végétaux ciblés. (C) Analyse des plantes silencieuses pour le gène GO montrant l'expression de ce gène dans des plantes sauvages, transformées par un vecteur VIGS vide (EV) et par une construction VIGS GO et l'accumulation des AIM dans les plantes EV (blanc) et VIGS GO (gris). GOI : Gene of Interest

par exemple) peut être suivie de tests fonctionnels utilisant des protéines recombinantes car dans la grande majorité des cas, la réaction catalysée par l'enzyme recherchée est connue. A l'inverse, lorsque des gènes candidats sont sélectionnés par des approches de corrélation d'expression génique, chacun d'eux peut potentiellement assurer une myriade de réactions différentes de la voie de biosynthèse des AIM rendant impossible une étude de leur fonction par des tests biochimiques classiques. Dans ce cas de figure, il est donc nécessaire d'étudier la fonction du gène en utilisant une méthode « sans a priori » comme dans les cas des approches de génétique inverse. Pour ce faire, BBV développa une approche d'extinction transitoire d'expression génique pour *C. roseus*, dite technique VIGS pour « virus-induced gene silencing » (Figure 3A)^{ref 2}. Le principe du VIGS implique l'intégration, dans un génome viral, d'un fragment (150 à 400 pb) du gène végétal dont on souhaite bloquer l'expression. Le processus de défense enclenché par la plante contre le virus, basé sur l'interférence d'ARN, amène en retour la dégradation des transcrits viraux, celle du fragment du gène végétal intégré au virus et par ricochet celle

des transcrits correspondants dans la plante (Figure 3B). Bien que le silencing VIGS ne soit que transitoire, il permet une inhibition de l'expression du gène ciblé qui peut atteindre 90-95% sur au moins trois semaines (Figure 3A), une période de temps largement suffisante pour observer des modifications du métabolisme des AIM par exemple. Appliqué à grande échelle, ce type d'approche permet ainsi l'identification de nombreux gènes impliqués dans la synthèse de catharanthine et de vindoline dont notamment celui codant la P450 geissoschizine oxydase (GO) agissant très en amont de la synthèse de ces AIM (Figure 3A)^{ref 3}. De façon remarquable, le silencing de ce gène se traduit par une chute drastique de l'accumulation de vindoline et catharanthine causant la redistribution des intermédiaires biosynthétiques vers des AIM issus d'autres sous parties de voies, comme la serpentine dont le taux peut plus que tripler dans les plantes silencées comparativement aux plantes contrôles transformées par un vecteur vide (Figure 3C). Ce phénomène de redistribution fut également observé lors de l'invalidation du gène (catharanthine synthase, CS) assurant l'étape ultime de synthèse de cet AIM^{ref 4}.

3. Des cellules usines pour produire des *Vinca* alcaloïdes à la demande

Les récentes pénuries de vinblastine et vincristine ayant soulevé la question de la sécurisation de leur approvisionnement, la nécessité de développer des stratégies alternatives/complémentaires de synthèse est apparue évidente. Dans ce contexte, le laboratoire BBV s'est engagé, avec le groupe industriel Axyntis, leader français de la chimie fine, dans la mise en place d'approche de bioproduction de précurseurs de ces anticancéreux, via la création de cellules usines lévuriennes productrices de vindoline et catharanthine, dans la continuité de leur recherche initiale utilisant les cellules végétales. Ces travaux, rendus possibles par l'élucidation complète des voies de biosynthèses des AIM, ont été financés par la région Centre-Val de Loire dans le cadre de l'ARD2020 Biomédicaments puis par le programme européen H2020 (projet MIAMi coordonné par l'Université Technique du Danemark). Ils ont, très récemment abouti à la création des premières souches de levure co-synthétisant vindoline et catharanthine pour assurer l'hémisynthèse de vinblastine^{ref 5, ref 6}.

Ces cellules usines sont ainsi le fruit d'une édition génétique intense reposant sur le transfert de gènes de biosynthèse (Figure 4A) issus de la pervenche de Madagascar et de plusieurs autres espèces proches. L'intégration de ces gènes a été assurée par CRISPR/Cas9 de façon à cibler des zones génomiques qualifiées de « hot-spots » et permettre l'intégration de nos constructions entre des gènes essentiels à forte activité transcriptionnelle. Ce contexte favorise ainsi une forte expression des transgènes et garanti une grande stabilité génétique des souches en raison de

la létalité des recombinaisons intrachromosomiques à ces loci. Au total 31 gènes de biosynthèse ont ainsi été transférés dans les levures usines. De façon originale, alors que la partie terpénique des AIM dérivent de la voie du méthylérythritol phosphate dans les plantes, l'approvisionnement en isopentényl diphosphate (IPP) et diméthylallyl diphosphate (DMAPP) a été assuré par détournement de la voie du mévalonate (Figure 4A). En outre, comme de nombreuses cytochromes P450 composent la voie des AIM (ex : G8H, IO, 7DLH, SLS, GO, T16H, T3O), une co-expression des co-enzymes cytochrome P450 réductase (CPR) et cytochrome b5 a également été réalisée pour maximiser l'activité des P450 hautement consommatrice d'électrons. Néanmoins, les premières synthèses d'AIM réalisées par ces souches restaient décevantes et limitées à une forte accumulation de l'intermédiaire strictosidine, suggérant donc potentiellement une très faible activité de l'enzyme strictosidine β -D-glucosidase (SGD). Cette enzyme s'avère en effet cruciale dans la synthèse des AIM car elle assure la déglucosylation de la strictosidine pré-requis à l'ensemble des réactions subséquentes de la voie. Pour lever ce verrou, plus de 46 homologues de SGD issues de différentes plantes productrices d'AIM ont été testés afin d'identifier une unique enzyme réellement active en levures, issue de l'espèce *Rauwolfia serpentina*. En outre, si l'expression de cette SGD permet de débloquent la synthèse des AIM, de nombreux travaux complémentaires furent également entrepris pour augmenter les flux de synthèse alcaloïdiques en levure, incluant 12 modifica-

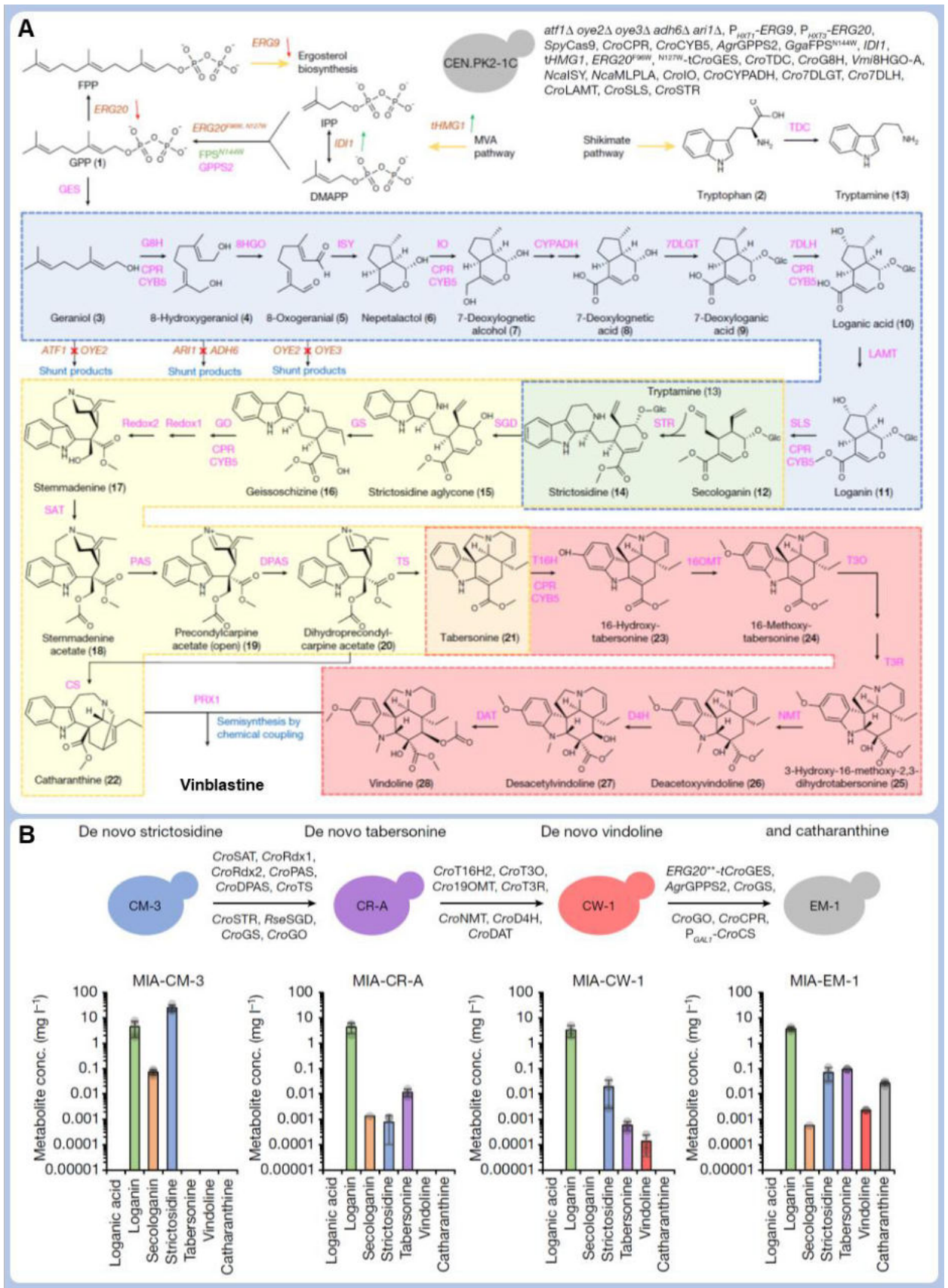


Figure 4 : Voie de biosynthèse des AIM transférée en levure (A) pour le développement de souches de levure synthétisant de novo la vindoline et la catharanthine (B). Sur le panel A, les différents modules de la voie de biosynthèse sont représentés par des blocs de couleur, le nom des enzymes exprimées de façon hétérologue est indiqué en rose tandis que celui des éditions génétiques complémentaires (expression *tHMG1* ; invalidation *ATF1* et *OYE2*) le sont en marron. Le génotype de la souche productrice de strictosidine est précisé en haut à droite. Sur le panel B, les différents ajouts de gènes conduisent à la synthèse progressive des différents AIM.

tions génétiques supplémentaires. Parmi celles-ci, le remplacement de la 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMGR) native de levure par une version tronquée non sujette à une régulation négative en feedback (tHMG1), la down-régulation des gènes ERG9 et ERG20 (associés à la production d'ergostérol) pour maximiser la synthèse de géranyl diphosphate (GPP), précurseur terpénique des AIM ou encore la délétion des gènes ATF1 (alcool déshydrogénase) et OYE2 (oxydoréductase dépendante du NADPH) notamment permirent encore d'accroître la

synthèse de novo de strictosidine à des niveaux avoisinant les 30 mg/litre. C'est ensuite l'ajout des blocs de gènes successifs formant les différentes sous-parties de la voie de biosynthèse qui permit de générer une souche synthétisant à la fois catharanthine et vindoline directement utilisables pour une synthèse de vinblastine. L'obtention d'une telle souche fonctionnelle est ainsi le fruit du transfert de la plus longue voie de synthèse qui ait été effectué en levure à ce jour.

Conclusion

Si les taux de biosynthèse de vindoline et catharanthine restent encore faibles, le développement de ces souches ouvre des perspectives concrètes d'approvisionnement en anticancéreux par bioproduction. Une telle exploitation nécessitera néanmoins une optimisation complémentaire des cellules usines et leur culture dans des bioréacteurs de plus grande capacité, comme BBV l'a initié sur le plateau technique du Bio3 Institute depuis plusieurs mois. Enfin, au-delà de la production de formes naturelles des AIM, l'ingénierie complémentaire des cellules usines permettra très rapidement la synthèse de variants halogénés d'AIM via l'expression d'halogénases bactériennes. Celles-ci permettent de chlorer, fluorer, ioder des AIM au cours de leur synthèse pour en accroître les propriétés biologiques. Il s'agit là de capacités propres aux cellules usines qui pourraient ainsi contribuer, au-delà des questions de sécurisation, à l'enrichissement de notre arsenal thérapeutique via la production d'AIM non naturels.

Références

1. Paddon, C J et al. "High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin." *Nature* vol. 496,7446 (2013): 528-32. doi:10.1038/nature12051
2. Carqueijeiro, I et al. "Virus-induced gene silencing in *Catharanthus roseus* by biolistic inoculation of tobacco rattle virus vectors." *Plant biology (Stuttgart, Germany)* vol. 17,6 (2015): 1242-6. doi:10.1111/plb.12380
3. Tatsis, Evangelos C et al. "A three enzyme system to generate the Strychnos alkaloid scaffold from a central biosynthetic intermediate." *Nature communications* vol. 8,1 316. 22 Aug. 2017, doi:10.1038/s41467-017-00154-x
4. Caputi, Lorenzo et al. "Missing enzymes in the biosynthesis of the anticancer drug vinblastine in Madagascar periwinkle." *Science (New York, N.Y.)* vol. 360,6394 (2018): 1235-1239. doi:10.1126/science.aat4100
5. Kulagina, Natalja et al. "Enhanced bioproduction of anticancer precursor vindoline by yeast cell factories." *Microbial biotechnology* vol. 14,6 (2021): 2693-2699. doi:10.1111/1751-7915.13898
6. Zhang, Jie et al. "A microbial supply chain for production of the anti-cancer drug vinblastine." *Nature* vol. 609,7926 (2022): 341-347. doi:10.1038/s41586-022-05157-3



Contact : Vincent COURDAVAULT

EA 2106 - Biomolécules et
Biotechnologies Végétales (BBV)
UFR des Sciences et Techniques
UFR des Sciences Pharmaceutiques
Parc de Grandmont , 31 avenue Monge
37200 TOURS

vincent.courdavault@univ-tours.fr

La plateforme MO2VING, de la molécule au petit animal



IBiSA • Infrastructures en Biologie Santé et Agronomie

phenomin



EXCELLENCE IN MOUSE PHENOGENOMICS

La plateforme MO2VING (from MOlecular Organization to in Vivo ImagiNG) concentre sur un même site des techniques et expertises multiples et complémentaires qui s'étendent de la caractérisation moléculaire de biomolécules à l'imagerie multi-échelle de la cellule au petit animal. En stimulant des approches multimodales et multi-échelles, MO2VING permet d'intégrer différents niveaux d'information pour comprendre le fonctionnement de systèmes biologiques.



MO2VING

from MOlecular Organization to in Vivo ImagiNG

Créée mi 2022 et labellisée IBiSA (Infrastructures en Biologie et Santé et Agronomie) fin 2022, MO2VING est issue de la structuration de 5 plateformes technologiques indépendantes situées dans deux unités du campus CNRS d'Orléans : le Centre de Biophysique Moléculaire (CBM UPR4301) dirigé par Matthieu Réfrégiers et l'unité d'appui à la recherche Transgénomique et Archivage des Modèles Animaux (TAAM UAR44) dirigée par Cécile Frémond.

Le site CBM regroupe les sous-plateformes Résonance Magnétique Nucléaire (RMN), Spectrométrie de Masse (MS), Cytométrie en flux et Imagerie cellulaire (P@CYFIC) et Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) et le site TAAM héberge la sous-plateforme TAAM-Imagerie *in vivo* (ex-CIPA : Centre d'Imagerie du Petit Animal).

Les sous-plateformes RMN et MS constituent le pôle moléculaire de MO2VING et P@CYFIC, IRM et TAAM-Imagerie *in vivo* composent le pôle imagerie.

La plateforme fédère 18 personnes (2 directeurs de recherche, 4 chargés de recherche, 1 maître de conférences, 4 ingénieurs de recherche, 5 ingénieurs d'études, 1 assistant ingénieur, 1 technicien) représentant 9.5 ETP (Equivalent Temps Plein), ce qui lui permet d'offrir un soutien technique et scientifique pour la réalisation de projets *via* : 1) l'analyse d'échantillons dans le cadre de prestations de service et de collaborations et 2) la formation des utilisateurs, qui réalisent eux-mêmes leurs acquisitions sur les instruments mis à disposition. MO2VING est accessible à toute la communauté scientifique régionale, nationale et internationale, aussi bien aux laboratoires publics qu'aux entreprises privées.

Caractérisation moléculaire de biomolécules

Spectrométrie de masse

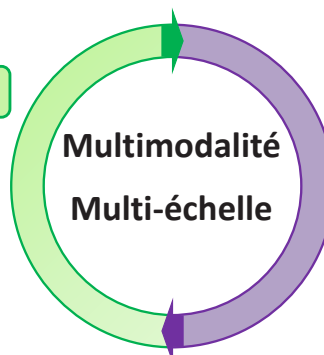
RMN

Imagerie de la cellule au petit animal

Cytométrie en flux et imagerie cellulaire

IRM / SRM

Imagerie du petit animal



1. Caractérisation moléculaire de biomolécules

Le pôle moléculaire offre des services de RMN et de MS pour l'analyse de biomolécules (protéines entières, peptides, oligonucléotides, glycanes, lipides, polymères ou petites molécules organiques) qui peuvent être pures ou présentes dans des mélanges complexes. Ces analyses peuvent être effectuées dans plusieurs optiques :

- Vérifier la qualité d'un produit issu de synthèse organique, de génie biologique ou d'une purification biochimique
- Déterminer la formule brute d'un composé
- Caractériser les agents d'imagerie médicale
- Mesurer la dynamique par RMN (T1, T2, CEST, CPMG, zz, mesure de coefficient de diffusion)
- Identifier des molécules inconnues (métabolisme, impureté...)
- Déterminer la structure tri-dimensionnelle de protéines
- Caractériser des modifications post-traductionnelles ou induites des protéines (nature, stœchiométrie, localisation)
- Caractériser des complexes protéine-ligand et protéine-protéine (constantes cinétiques, site(s) de liaison, identification des partenaires)
 - Identifier des protéines (protéomique)
 - Identifier des métabolites (métabolomique)

Le pôle moléculaire est équipé de trois spectromètres RMN (400, 600 et 700 MHz équipé d'une cryosonde) et trois spectromètres de masses (MALDI-TOF/TOF, ESI-IT et nanoLC-UHR-QTOF). Les acquisitions de la RMN 700 MHz et du système nanoLC-UHR-QTOF ainsi que l'upgrade des RMN 400 MHz et 600 MHz et de l'ESI-IT ont été réalisées sous l'égide de la Fédération de Recherche « Physique et Chimie du Vivant » FR2708.

La mise à niveau de la RMN 700 MHz en 2024 dans le cadre du CPER permettra de continuer à développer les approches de biologie structurale telles que les études de peptides antimicrobiens, de toxines riches en ponts disulfures, de protéines sumoylées ou encore des protéines intrinsèquement désordonnées. Dès 2025, l'acquisition d'une nouvelle technologie ESI-MS, permettra la caractérisation de grands assemblages moléculaires (~1 MDa et plus) pour par exemple réaliser du criblage en spectrométrie de masse native en amont de l'analyse cryo-EM afin d'évaluer la composition, l'intégrité et l'homogénéité des échantillons avant leur congélation sur des grilles EM.

• Caractérisation structurale de protéines

Le pôle moléculaire a un fort ancrage dans la caractérisation structurale de protéines. Ces dernières sont des composants essentiels de tous les organismes vivants. Impliquées dans la plupart des processus biologiques, les protéines peuvent être des cibles thérapeutiques, des médicaments potentiels ou encore des biopesticides si leur fonction est connue. Comment connaître la fonction des protéines ? En étudiant leur structure et en établissant des relations structure-fonction.

Dans leur état natif, un grand nombre de protéines présentent un repliement spatial très organisé. Cette structure tridimensionnelle donne l'agencement des sites actifs, des domaines d'interaction et des lieux de fixation des ligands et donc renseigne sur leur mécanisme d'action. L'établissement de la relation structure/fonction et/ou structure/évolution des protéines permet la compréhension de leur rôle dans les processus biologiques. C'est pourquoi toute information structurale peut apporter des précisions sur la fonction des protéines au sein de la cellule.

MO2VING-RMN est impliqué dans de nombreux projets nécessitant la détermination de la structure tri-dimensionnelle de peptides ou de protéines. Par exemple, l'ANR Biofamily s'intéresse à l'étude d'une nouvelle classe structurale de défensines, appelées

BCR (Bacteriocyte-specific Cysteine Rich peptides) qui seraient impliquées dans la régulation de l'endosymbiose des pucerons et ont, pour certaines d'entre elles, une activité pesticide (**Figure 1.A, Loth et al. 2022**). Une protéine peut aussi être partiellement ou totalement désordonnée (50% des protéines Eucaryotes). Ces protéines pourtant dépourvues de structure ne sont pas dépourvues de fonctions. Elles ont, en effet, une grande plasticité leur permettant d'interagir avec différents types de partenaires (protéine, ADN, ARN). C'est au moment de l'interaction avec leur partenaire qu'elles se structurent. Dans ce contexte, MO2VING-RMN est impliqué dans l'étude du domaine NID de la protéine Mtb-Rho qui est intrinsèquement désordonné et qui se structurerait au contact d'un brin d'ARN cible (ANR MYCHRO, 2023-2027, **Figure 1.B**)

MO2VING-MS est impliqué dans le Consortium for Top-Down Proteomics qui échange sur les développements de méthodes de spectrométrie de masse pour la caractérisation de protéines et de leurs complexes. La spectrométrie de masse Top-Down consiste à fragmenter les protéines entières directement dans l'instrument. C'est une méthode avancée pour l'analyse des protéines et la détection de modifications post-traductionnelles, qui offre des avantages significatifs par rapport à la méthode

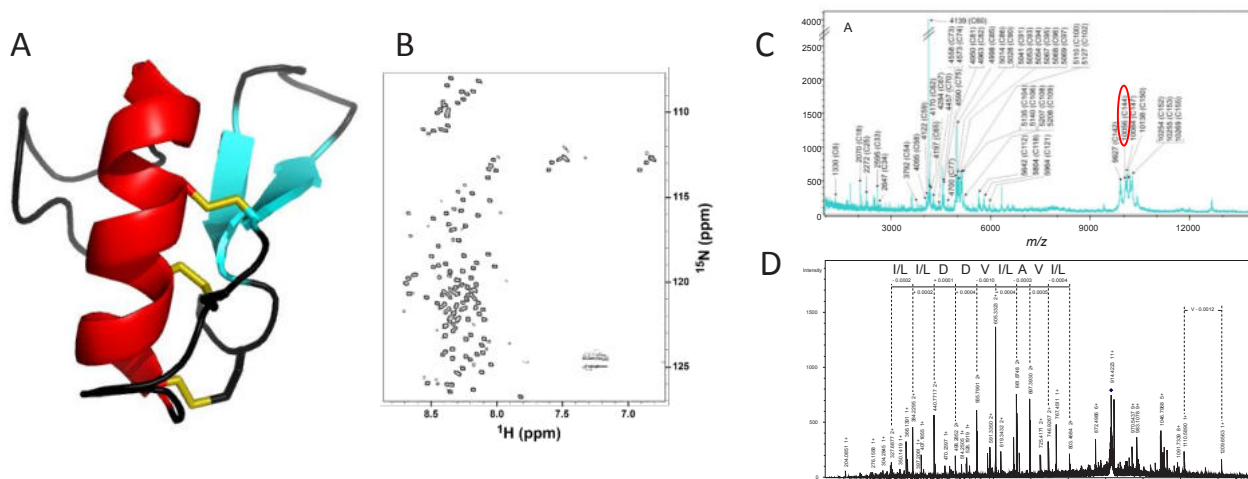


Figure 1 : A/ Structure 3D de la protéine BCR4. B/ Spectre 15N HSQC du domaine MtbNID (acides aminés 76-218), spectre caractéristique d'un domaine largement non structuré du fait du peu d'étalement des pics selon l'axe des hydrogènes. C/ Spectre MALDI-TOF MS d'un extrait polaire de termite reproducteur femelle. D/ Fragmentation ESI-QTOF top-down de l'espèce correspondant au pic de m/z 10056 observé en MALDI-TOF (entouré en rouge). La présence d'acide aminé dans le spectre top-down démontre l'existence de protéine dans l'extrait polaire (Ruhland et al., 2023).

classique bottom-up (analyse des peptides générés par protéolyse) en termes de capacité à détecter des modifications complexes, rares ou inattendues et en termes de conservation de la filiation entre la protéoforme fragmentée et les modifications identifiées. La spectrométrie de masse Top-Down permet ainsi de mieux comprendre les mécanismes de régulation des protéines et les phénomènes de « crosstalk » des modifications post-traductionnelles identifiées. Dans ce contexte, nous avons récemment identifier des protéines potentiellement impliquées dans les interactions sociales chez les Termites (**Figure 1. C et 1.D**) (Ruhland et al., 2023) dans le cadre de l'APR-IR BioContrôleTermite et nous avons publié une méthode permettant de faciliter et rationaliser l'approche Top-Down (Gabant et al, 2023).

• **Analyse métabolomique par RMN**

Des analyses de nombreux échantillons : fluides biologiques, extraits de bactéries, de cellules et de tissus peuvent être réalisées par RMN afin d'identifier les métabolites discriminants (sucres, acides aminés, acides gras, ...) issus de différents lots d'échantillons grâce à des analyses statistiques uni et multivariées. Ces études permettent ainsi de déterminer les principales perturbations métaboliques et les voies biochimiques impliquées. Grâce à la connaissance acquise, de nouvelles cibles thérapeutiques peuvent ainsi être identifiées et l'effet de traitements analysé.

Différentes pathologies humaines (maladie d'Huntington, maladie de Parkinson, tumeurs cérébrales, X-fragile) ont été modélisées chez la drosophile ou chez la souris et ont permis d'identifier les voies métaboliques impliquées dans ces maladies.

2. Imagerie de la cellule au petit animal

Le pôle imagerie propose des services d'imagerie cellulaire et d'imagerie du petit animal.

• **Imagerie cellulaire pour décrypter les mécanismes d'action**

L'imagerie cellulaire permet une étude allant des tissus (histologie) à la cellule et à son contenu. Le plateau MO2VING-P@CYFIC est équipé d'un cytofluorimètre en flux (haut débit, 18 paramètres), d'un trieur de cellules avec la même configuration optique, de 2 vidéomicroscopes à champ large et d'un microscope confocal dernière génération. Un des vidéomicroscopes est équipé d'un contrôle du taux d'oxygène pour reproduire le microenvironnement tumoral (hypoxie) ou physiologique (physioxie) afin de réaliser des études dans les conditions mimant l'in vivo.

Ces équipements permettent des études très variées telles que :

- la détermination de phénotypes cellulaires et

l'analyse de populations de cellules dans un mélange complexe (tumeurs, cellules sanguines, organoïdes/sphéroïdes, **Figure 2.A**)

- la quantification de l'expression de marqueurs et leur localisation dans un tissu, au niveau cellulaire ou intracellulaire
- le tri cellulaire pour purifier une population définie de cellules, à partir d'un mélange hétérogène de types cellulaires, avec possibilité de clonage par tri en plaque de culture
- la dynamique cellulaire : cicatrisation, angiogenèse, recrutement cellulaire en condition statique ou en condition de flux mimant le flux sanguin
- la dynamique moléculaire : suivi de l'endocytose, du trafic intracellulaire (FRAP, FLIP)
- les interactions cellulaires (FRET)
- les dosages multiplexes sur billes

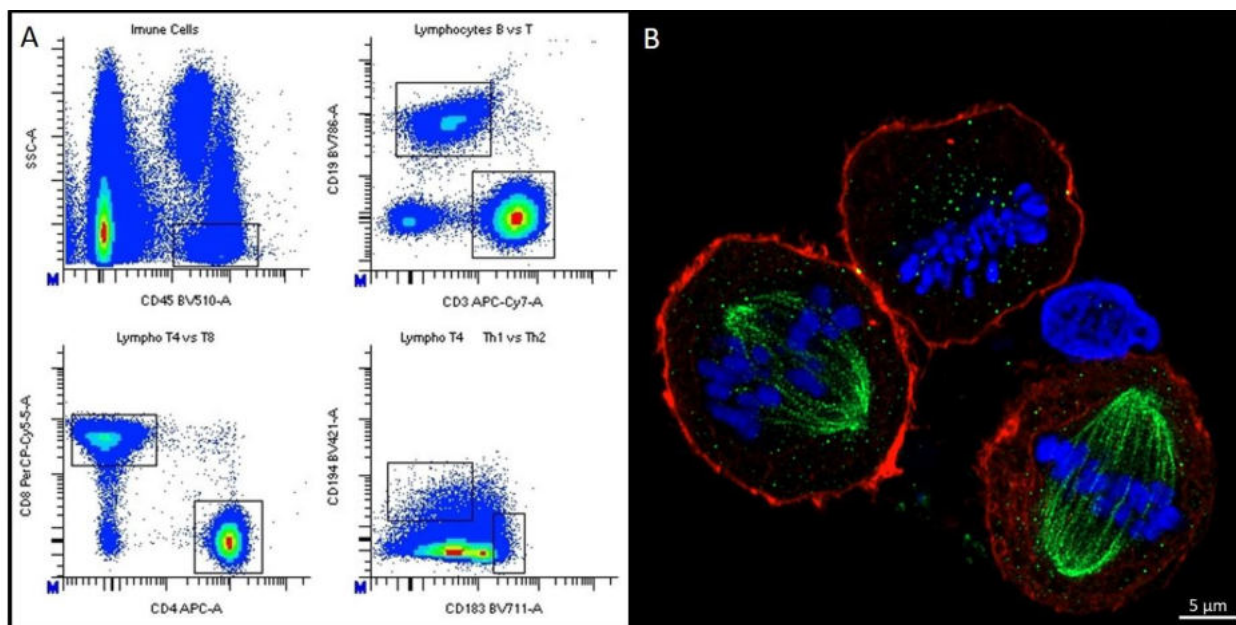


Figure 2 : *A/ Phénotypage par cytométrie en flux d'échantillon sanguin. B/ Observation par microscopie confocale de cellules d'ostéosarcomes U2OS en phase de mitose*

La cytométrie en flux est une technologie indispensable à la compréhension des mécanismes géant l'homéostasie de la cellule et, par conséquent, à son dérèglement lors de pathologies. Dans le cadre de plusieurs projets développés en collaboration avec le CHU d'Orléans (APR-IA Trans-Infla, APR-IR TheraSEP), le phénotypage ainsi que la mise en évidence de marqueurs spécifiques sur les cellules sanguines de patients permettent d'étudier l'inflammation chronique et d'autres processus cellulaires liés à différentes pathologies (SIDA, Sclérose en plaque, etc., **Figure 2.A**), d'élaborer de nouveaux traitements et de suivre leurs effets et conséquences afin de soulager les patients (**Serrano et al., 2018 ; Reverchon et al., 2022**).

L'imagerie permet de caractériser les modèles cellulaires pour les études de pathologies *in vitro*. L'imagerie de fluorescence et la cytométrie en flux ont contribué à l'étude des interactions cellulaires dans les modèles de sphéroïdes complexes de mélanome en conditions d'hypoxie. La capacité de ces derniers à recruter des cellules endothéliales progénitrices pour développer une angiogenèse tumorale a été démontrée par vidéomicroscopie, mimant ainsi le processus de vascularisation observé *in vivo* (**Kli-mkiewicz et al., 2017**). Récemment, dans le cadre du projet ARD Cosmetosciences PLASMACOSM, la microscopie de fluorescence a permis de caractériser un modèle d'épiderme humain reconstruit dans les conditions d'oxygénation reproduisant le microenvironnement physiologique de la peau (**Chet-touh-Hammas et al., 2023**).

Les techniques de cytométrie en flux et d'imagerie cellulaire (**Figure 2.B**) permettent l'étude sur des modèles *in vitro* avant les études *in vivo* dans les modèles animaux. Ces techniques sont également des outils de choix pour l'analyse des cellules et des

mécanismes intracellulaires dans les études *in vivo*. Elles sont aussi un atout majeur en venant en appui aux études cliniques avec les analyses sur des prélèvements issus de patients. Le plateau MO2VING-P@CYFIC intervient dans l'ensemble de ces études jouant un rôle important dans les recherches transversales développées sur le territoire Orléanais.

- **Imagerie du petit animal pour mieux comprendre les maladies humaines**

L'imagerie *in vivo* du petit animal, nommée également imagerie préclinique, permet de visualiser des processus biologiques à l'échelle macroscopique dans un organe d'un individu vivant. Elle utilise des outils d'imagerie non invasifs sur des modèles animaux pour comprendre les mécanismes sous-jacents de maladies humaines, pour évaluer l'efficacité de nouvelles thérapies, ainsi que pour aider au développement de nouveaux médicaments. L'imagerie préclinique est une approche essentielle de la recherche biomédicale pour mieux comprendre les maladies et élaborer des traitements efficaces afin que leur développement puisse se poursuivre jusqu'à leur évaluation sur des patients.

La plateforme MO2VING propose l'exploration fonctionnelle et anatomique du petit animal (lapin, rat, souris, insectes) grâce aux modalités d'imagerie suivantes : imagerie et spectroscopie par résonance magnétique (IRM et SRM), tomodynamométrie X, échographie, imagerie radioisotopique (SPECT-CT), optique (bioluminescence) et photoacoustique. Un des avantages uniques de ces techniques est de pouvoir réaliser des suivis longitudinaux, c'est à dire qu'un même animal pourra être suivi sur plusieurs intervalle de temps sans avoir à recourir à une autopsie pour chaque étape. Cette approche augmente la fiabilité des résultats expérimentaux et s'inscrit par-

faitement dans la démarche éthique des 3R (Réduction, Remplacement, Raffinement). En outre, ces techniques permettent de visualiser la structure, la fonction et la dynamique des organes et des tissus à différentes échelles, allant de l'échelle moléculaire à l'échelle macroscopique. La Figure 3 montre un exemple d'exploration fonctionnelle (Figure 3.A) et anatomique (Figure 3.B) chez la souris.

Par ailleurs, le pôle imagerie intervient dans des domaines variés tel que le phénotypage d'animaux transgéniques ou mutants, l'inflammation, la thérapie génique et la cancérologie. Il est notamment expert dans le développement de modèles murins de cancers, y compris les modèles orthotopiques pour lesquels les cellules tumorales sont implantées, généralement par chirurgie, dans l'organe d'origine des cellules. On peut citer par exemple des modèles de cancer de la prostate, du pancréas, du poumon, du sein et du côlon. Pour ce modèle, une nouvelle voie d'administration moins traumatique et constituant un modèle plus représentatif de la pathologie humaine est en cours de développement. L'objectif

est de pouvoir déposer les cellules tumorales directement dans le colon en utilisant un endoscope adapté à la souris.

La récente annonce de la création d'un CHU à Orléans représente une opportunité majeure pour structurer les études précliniques et la recherche en santé. En associant l'IRM, la SPECT/CT, le scanner X, la bioluminescence, l'imagerie optique, l'échographie et la photoacoustique, MO2VING proposera un ensemble de technologies complémentaires qui sera précieux pour l'optimisation des études précliniques en cancérologie, en neurologie ainsi que dans d'autres disciplines liées à la santé.

Dans ce contexte, deux médecins collaborent avec le plateau IRM pour mener leur thèse de recherche respectivement en rhumatologie et en neuroradiologie. MO2VING-IRM dispose de 2 imageurs de 7T et 9,4T dédiés au petit animal, équipés chacun d'un système d'anesthésie gazeuse. Il propose un panel de techniques d'imagerie et de spectroscopie localisée. Les techniques d'imagerie (contrastes T1 et T2, angiographie, diffusion, perfusion) per-

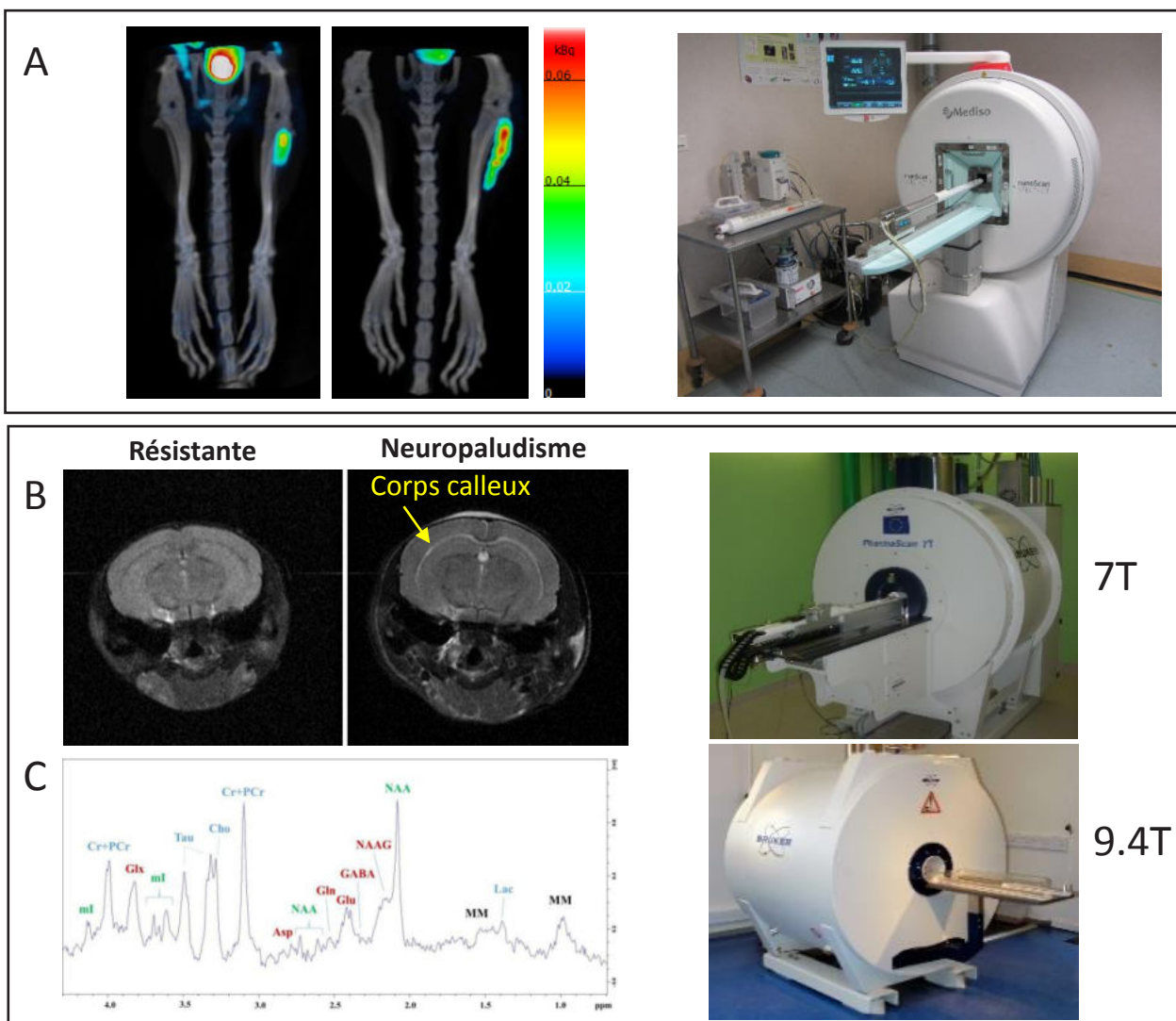


Figure 3 : Imagerie in vivo de souris. A/ Imagerie SPECT/CT de l'expression d'un microARN au niveau du muscle tibial chez la souris (Simion et al. 2017). B/ Imagerie IRM de cerveau de souris pour l'étude de la malaria cérébrale. C/ Spectre SRM 1H du cerveau de souris.

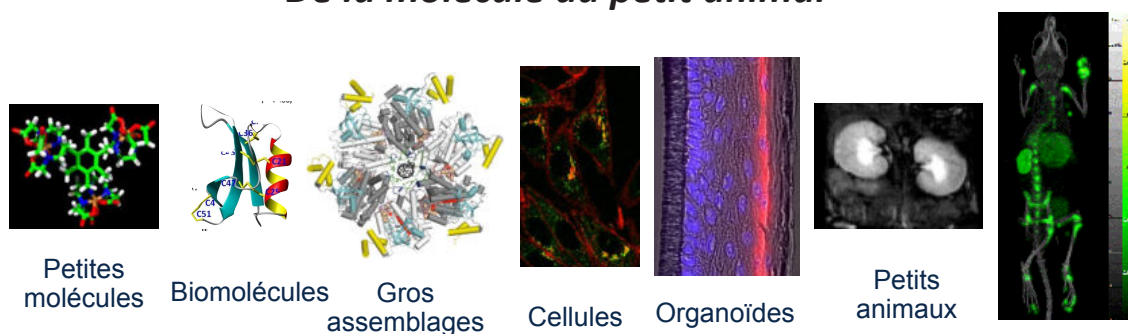
mettent d'accéder à des informations anatomiques et morphologiques de la physiologie des tissus. La spectroscopie détecte les signaux des molécules endogènes, permettant d'accéder ainsi à des informations métaboliques en situation physiologique ou patho-physiologique (Figure 3.C). MO2VING-IRM dispose de compétences techniques lui permettant de concevoir différentes bobines d'IRM et différents lits. Il peut ainsi répondre à des projets sur différents

modèles animaux (lapin, rat, souris, insectes), sur différents organes et différents noyaux atomiques, principalement l'hydrogène (1H), mais également d'autres tels que 19F, 31P, 13C, 129Xe. L'évolution technologique de l'IRM 7T, prévue en 2023, permettra d'améliorer la résolution et la sensibilité de l'instrument et d'ajouter de nouvelles techniques d'acquisition.

3. Multimodalité – Multi-échelle

L'originalité de la plateforme MO2VING est de proposer un continuum allant des études moléculaires à l'imagerie *in vivo* en passant par l'analyse cellulaire et métabolomique. Ces techniques et expertises complémentaires permettent le développement de nouveaux axes de recherches tel que la compréhension de l'origine de la résistance des cellules aux traitements antitumoraux.

De la molécule au petit animal



• Vers une meilleure compréhension de l'origine de la résistance des cellules aux traitements antitumoraux

L'hypoxie correspond à un déficit en oxygène par rapport aux besoins des tissus de l'organisme. Ce microenvironnement pauvre en oxygène est caractéristique des tumeurs et constitue la principale cause de radio- et chimiorésistance des cellules cancéreuses. Ce déficit en oxygène se situe généralement au cœur de la tumeur, comme illustré en imagerie photo-acoustique dans la Figure 4. Pour étudier ce phénomène, la plateforme MO2VING constitue une ressource rare grâce à la possibilité d'explorer l'hypoxie en utilisant conjointement l'imagerie photo-acoustique et la mesure de la pO2 par IRM. Pour

approfondir l'analyse, la plateforme proposera le développement de projets en post-imagerie *in vivo* avec, par exemple, la réalisation d'analyses de cytométrie en flux, de microscopie de fluorescence, de métabolomique et de protéomique sur des cellules prélevées sur des animaux post-imagerie. Réciproquement, des biomarqueurs identifiés par métabolomique et protéomique pourront être étudiés par imagerie cellulaire en condition d'hypoxie versus normoxie, ainsi qu'en imagerie du petit animal afin de suivre par exemple leur biodistribution. Dans ce contexte, nous pourrions exploiter nos futures compétences en imagerie métabolique (« chemical shift imaging ») et imagerie bimodale IRM-SPECT/CT.

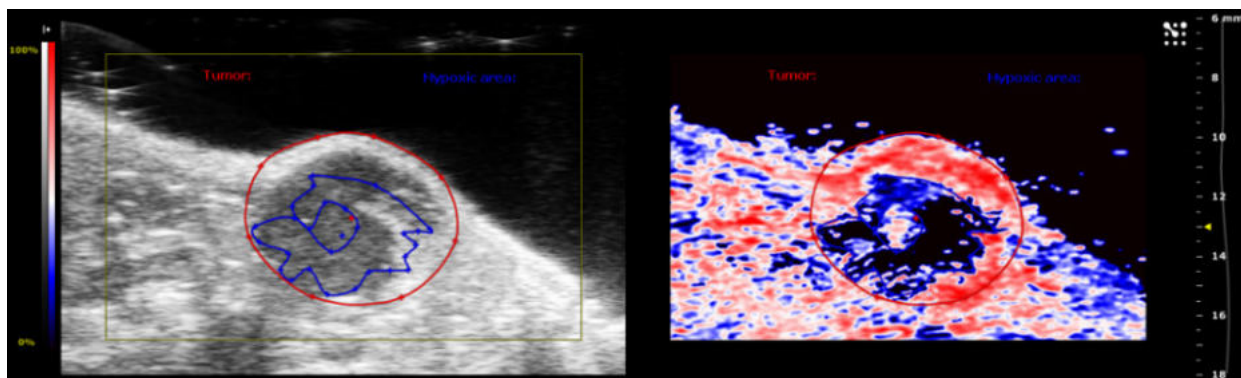


Figure 4 : Imagerie de l'hypoxie dans un modèle de cancer mammaire MDA MB 231. Echographique (à gauche) et photo-acoustique (à droite). Le contour de la tumeur est délimité par un cercle rouge. La zone hypoxique est entourée en bleu au cœur de la tumeur (Raes et al. 2020).

- **Évaluation de nouveaux agents d'imagerie multimodaux**

Le développement de nouveaux agents d'imagerie, plus sensibles et plus spécifiques aux cibles biologiques est un axe de recherche très actif au CBM et un enjeu important d'innovation pour l'imagerie médicale en général. L'évaluation *in vivo* de ces agents est primordiale pour comprendre leur action et leur biodistribution et ainsi optimiser de manière rationnelle leur structure chimique. Certains de ces agents

d'imagerie sont conçus pour être compatibles avec plusieurs modalités d'imagerie, on les dénomme agents multimodaux. C'est notamment le cas des agents bimodaux IRM/SPECT, fluorescence proche-infrarouge/photoacoustique et fluorescence proche-infrarouge/SPECT. La combinaison de plusieurs modalités d'imagerie telles que l'imagerie anatomique et une imagerie fonctionnelle permet d'obtenir davantage d'informations sur le modèle exploré.

Bibliographie

Chettouh-Hammas N, Fasani F, Boileau A, Gosset D, Busco G, Grillon C. Improvement of antioxidant defenses in keratinocytes grown in physioxia: comparison of 2D and 3D models. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, in revision.

Gabant G, Stekovic M, Nemicic M, Pinêtre J, Cadene M. (2023) A sDOE (Simple Design-of-Experiment) Approach for Parameter Optimization in Mass Spectrometry. Part 1. Parameter Selection and Interference Effects in Top-Down ETD Fragmentation of Proteins in a UHR-QTOF Instrument. *J Am Soc Mass Spectrom*. 34(1):27-35. doi: 10.1021/jasms.2c00215.

Klimkiewicz K, Weglarczyk K, Collet G, Paprocka M, Guichard A, Sarna M, Jozkowicz A, Dulak J, Sarna T, Grillon C, Kieda C. A 3D model of tumour angiogenic microenvironment to monitor hypoxia effects on cell interactions and cancer stem cell selection. *Cancer Lett*, 2017;396:10-20. doi: 10.1016/j.canlet.2017.03.006.

Loth K, Parisot N, Paquet F, Terrasson H, Sivignon C, Rahioui I, Ribeiro Lopes M, Gaget K, Duport G, Delmas AF, Aucagne V, Heddi A, Calevro F, da Silva P. Aphid BCR4 Structure and Activity Uncover a New Defensin Peptide Superfamily. *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 18;23(20):12480. doi: 10.3390/ijms232012480.

Reverchon F, Guillard C, Mollet L, Auzou P, Gosset D, Madouri F, Valéry A, Menuet A, Ozsancak C, Pallix-Guyot M, Morisset-Lopez S. T Lymphocyte Serotonin 5-HT7

Receptor Is Dysregulated in Natalizumab-Treated Multiple Sclerosis Patients. *Biomedicines*. 2022;10(10):2418. doi: 10.3390/biomedicines10102418.

Raes F, Badiane SM, Renoux B, Papot S, Lerondel S, Le Pape A. Development of an embedded multimodality imaging platform for onco-pharmacology using a smart anticancer prodrug as an example. *Sci Rep*. 2020 Feb 14;10(1):2661. doi: 10.1038/s41598-020-59561-8.

Ruhland F, Gabant G, Toussaint T, Nemicic M, Cadene M & Lucas C. (2023) Reproductive signature revealed by protein profiling and behavioral bioassays in termite. *Sci Rep*. 13(1):7070. doi: 10.1038/s41598-023-33252-6.

Serrano A, El Haddad S, Moal F, Prazuck T, Legac E, Robin C, Brulé F, Charpentier S, Normand T, Legrand A, Hocqueloux L, Mollet L. Dysregulation of apoptosis and autophagy gene expression in peripheral blood mononuclear cells of efficiently treated HIV-infected patients. *AIDS*. 2018;32(12):1579-1587. doi:10.1097/QAD.0000000000001851.

Simion V, Sobilo J, Clemençon R, Natkunarahaj S, Ezzine S, Abdallah F, Lerondel S, Pichon C, Baril P. Positive radionuclide imaging of miRNA expression using RILES and the human sodium iodide symporter as reporter gene is feasible and supports a protective role of miRNA-23a in response to muscular atrophy. *PLoS One*. 2017 May 11;12(5):e0177492. doi: 10.1371/journal.pone.0177492.

Contacts : Guillaume GABANT (CBM), guillaume.gabant@cns-orleans.fr

Julien SOBILO (TAAM), julien.sobilo@cns-orleans.fr

David GOSSET (CBM), david.gosset@cns-orleans.fr

<http://cbm.cns-orleans.fr/plateforme-mo2ving/>

Campus CNRS d'Orléans - 3A avenue de la Recherche Scientifique



De gauche à droite et de haut en bas :

Julien SOBILO, Stéphane PETOUD, Frédéric SZEREMETA, David GOSSET, Marylène BERTRAND, Hervé MEUDAL, Sharuja NATKUNARAJAH, Guillaume GABANT, Stéphanie RETIF, Karine LOTH, Marilyne LE MÉE, Sara LACERDA, Rudy CLEMENÇON, Sandra MEME, Catherine GRILLON, Martine CADENE

NeoVirTech, entreprise de biotechnologie spécialisée dans le développement de molécules à activité antivirale et le test de processus de désinfection, un soutien de Biotechnocentre depuis 2021



NeoVirTech SAS est une entreprise de biotechnologie innovante active depuis une dizaine d'années et localisée au cœur de l'Oncopole de Toulouse. Son cœur de métier repose sur un pilier technologique développé en 2010, le système ANCHOR™. Ce système permet de convertir de l'ADN en particule autofluorescente aisément visualisable par microscopie sur cellule vivante.

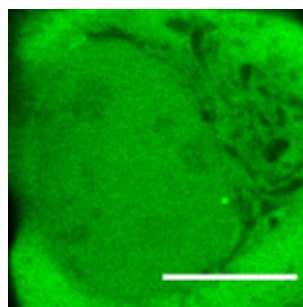
Inséré dans le génome viral, le système ANCHOR™ va permettre la visualisation de l'infection, de la réplication et de la propagation des virus en temps réel. NeoVirTech est lauréat des programmes I-Lab BPI France (2013 et 2016) et a été élu dans le top 10 des entreprises de découverte de médicaments en Europe en 2019 par le magazine PharmaTechOutlook. Basé sur une collection d'une trentaine de virus impliqués dans les domaines de la santé humaine, vétérinaire et Biodéfense, NeoVirTech propose ses services pour la découverte de molécules à activité antivirales et la visualisation de processus de désinfection.

La technologie ANCHOR™ pour la visualisation de l'infection et la réplication virale dans les cellules vivantes

La technologie ANCHOR™ a été créée et brevetée en 2010 avec pour objectif la visualisation de l'ADN dans les cellules vivantes. La technologie est à deux composantes :

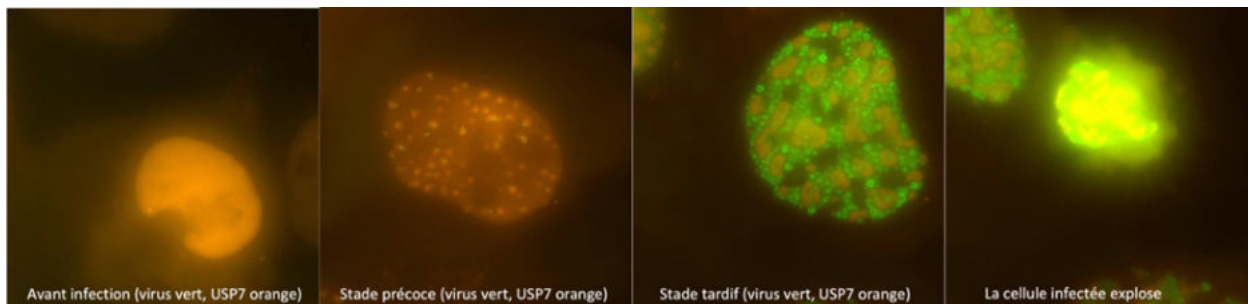
- une séquence ANCH, séquence d'ADN courte non codante et non répétée qui est inséré dans l'ADN à visualiser.
- une protéine OR fusionnée à une protéine fluorescente. La protéine OR va reconnaître spécifiquement la séquence ANCH et se multimériser sur cette séquence et l'ADN environnant. L'augmentation locale en protéine fluorescente sur la séquence ANCH va créer un spot fluorescent facilement détectable par microscopie (voir ci-contre).

Lorsque le système ANCHOR™ est inséré dans le génome viral, le virus va devenir autofluorescent et être capable de s'auto détecter de manière autonome. En effet, comme le virus apporte la fluores-



cence, dès qu'il rentre dans la cellule et active son programme répliatif, la cellule va devenir fluorescente. La position du génome viral va ensuite pouvoir être suivie en temps réel. Quand le virus se réplique, il va

créer plus de copies de son matériel génétique et également plus de copies du système ANCHOR™ contenu dans son génome. De ce fait, la réplication virale va se traduire par l'apparition de nombreux spots fluorescents jusqu'à la destruction de la cellule infectée. Notre atout : pas de fixation, pas d'extraction et pas de réactifs. Nos services sont rapides et à coût maîtrisés.



Utilisation de virus ANCHOR™ pour la découverte de nouvelles molécules à activité antivirales

Nous avons développé tout un pipeline de criblage de molécules à activité antivirale, allant des phases de découverte jusqu'au test in vivo chez l'animal infecté. Nos clients regroupent les laboratoires académiques, les sociétés accélératrices de transfert technologique, les entreprises de biotechnologies et les grands groupes pharmaceutiques. Nous positionnons notre offre sur les



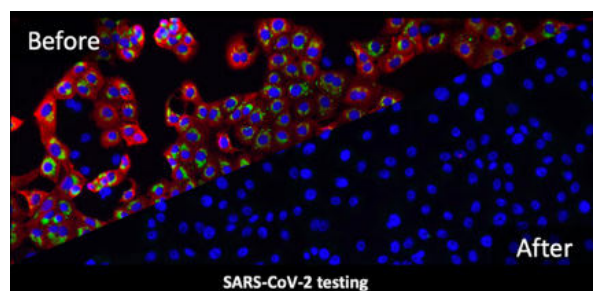
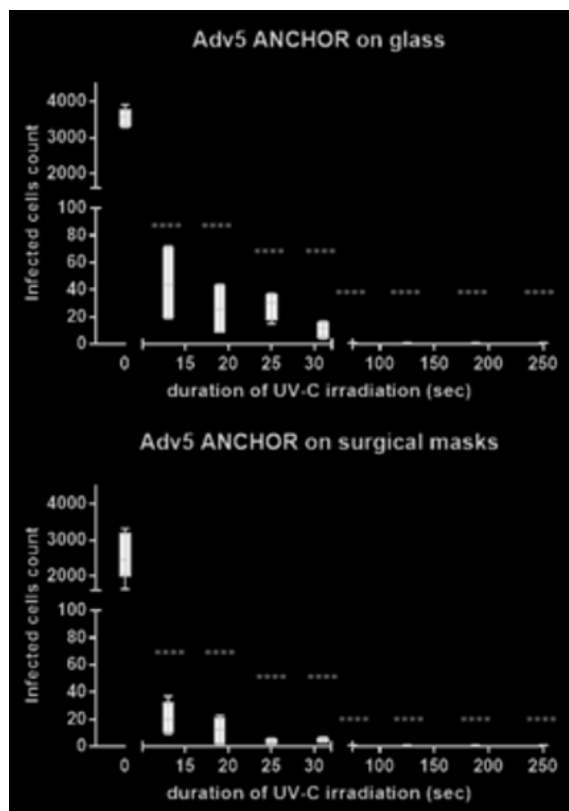
marchés humain, vétérinaire et Défense. Un processus classique de découverte de molécule à activité antivirale chez NeoVirTech implique plusieurs phases : la réception des composés et leur formatage, le criblage primaire des composés sur un virus donné avec en parallèle la mesure de la toxicité, la validation des hits et un criblage secondaire puis tertiaire en dose réponse.

Nous pouvons ensuite déterminer le mécanisme d'action de la molécule retenue, ses capacités large spectre et réaliser des études combinatoires pour enfin valider la molécule sur challenge in vivo. Les résultats que nous fournissons sont prêts à être publiés ou brevetés. Nous travaillons en fonction du virus en laboratoire de classe 2 ou 3 et sommes équipés en interne avec robot de pipetage et microscope à haut débit, couplé à un serveur de stockage de 22To (photo ci-contre). NeoVirTech manipule en routine une trentaine de virus pathogènes avec un accent majeur sur les herpes virus, poxvirus et bien évidemment le SARS-CoV-2 (pré-Voc, Delta, Omicron).

Utilisation de virus ANCHOR™ pour la découverte de nouvelles molécules à activité antivirales

Comme nous pouvons voir les virus, nous allons pouvoir identifier très rapidement des produits qui vont inactiver ces agents pathogènes et qualifier des

solutions de désinfection. Nous avons développé des protocoles de routine et des protocoles à façon afin de contaminer différents types de surface avec nos virus autofluorescents. Nous travaillons en routine sur du métal, du verre ou même des masques chirurgicaux. Nous contaminons le support avec le virus et ensuite appliquons la solution de désinfection du client. L'efficacité du processus est alors déterminée par rapport aux conditions non désinfectées. Nous fournissons à nos clients un virogramme de l'efficacité de leur produit de désinfection en fonction de la nature du virus, de la nature du support et du temps de contact. Nous travaillons avec des virus connus pour être résistants à la désinfection (hAdv5 ANCHOR™, voir graphique ci-contre). Les produits de désinfection testés sont de toute nature, nous avons travaillé avec des lingettes, des produits liquides, des gels, des gaz et des irradiateurs ultra-violet. Suite à la validation de l'activité sur adénovirus, nous réalisons

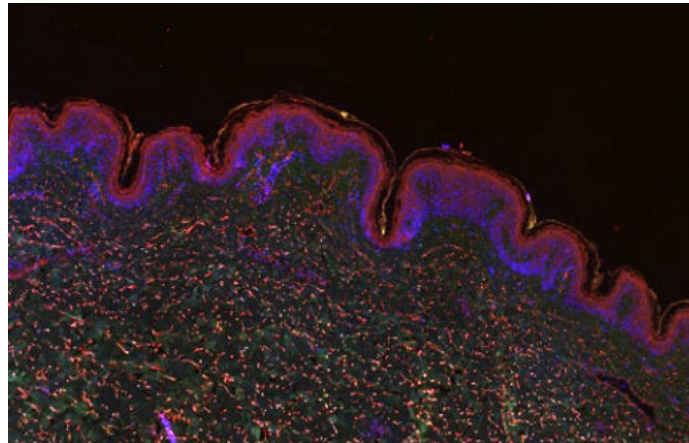




le test sur d'autres famille de virus jusqu'à la validation sur SARS-CoV-2 (voir page précédente en bas à droite, avant après désinfection aux UV).

Ces résultats sont cependant fournis sur des supports inertes qui ne reflète pas forcément les mécanismes de contamination, la plupart des contaminations virales étant manuportées

et donc, les virus sont au contact de la peau. Notre dernier modèle utilise des explants de peau humaine vivants issus de chirurgie. Nous contaminons la peau avec nos virus et appliquons la solution de désinfection (voir photo ci-contre). Nous avons la capacité de mesurer en parallèle l'efficacité de la désinfection et l'impact du produit sur la physiologie de la peau (structure, irritation, inflammation, modification du profil d'expression génique), voir photo d'une coupe de peau traitée ci-dessous. Ces modèles sont réalisés en collaboration avec la société Syntivia.

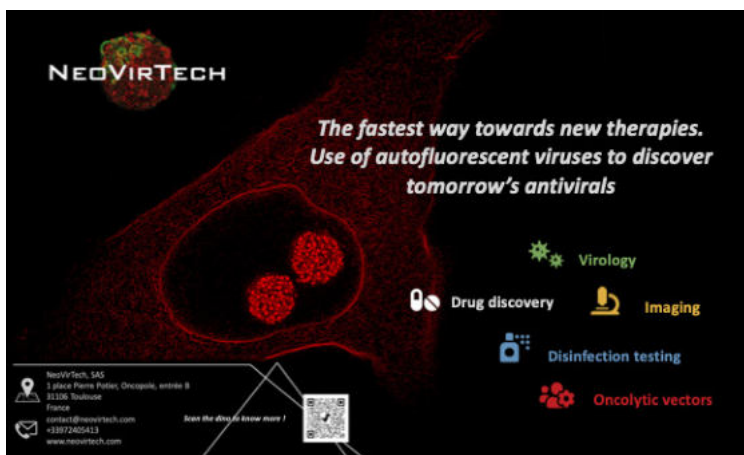


Le mot du dirigeant : « Avoir la capacité de visualiser des virus directement dans les cellules vivantes ouvre des perspectives uniques en termes de découverte de molécules à activité antivirales et de la compréhension de leur mécanisme d'action. NeoVirTech met son savoir-faire au service de la lutte contre les maladies infectieuses, que ce soit d'un point de vue prophylactique (procédure de désinfection) ou thérapeutique (développement d'antiviraux). Nous avons une approche One health, la moitié des virus que nous utilisons sont d'origine animale. »

Franck Gallardo a obtenu son doctorat à la faculté de Médecine de l'université de Montréal et poursuivi par deux post-doc (ARC/HFSP0). En 2010, il développe la technologie ANCHOR qu'il



licencie pour créer NeoVirTech début 2014. Franck a publié une trentaine d'articles scientifiques et réalisé 5 couvertures de journaux dont Nature Microbiology en décembre 2022. Franck est membre de la société internationale de recherche sur les antiviraux et membre distingué de la société mondiale de virologie.



Pour plus d'information :

contact@neovirtech.com

Liste des thèses soutenues en 2022

Site d'Orléans

- **BRETAGNE Damien** : Conception rationnelle de S-Glycosyltransférases à façon issues d'*Arabidopsis thaliana* : de la modélisation aux applications thérapeutiques et cosmétiques. Direction : LAFITE Pierre et DANIELLOU Richard (ICOA)
- **BRUGEMANN Kévin** : Développement de composés originaux modulant les canaux ioniques SK3 et Orai1 dans le but de réduire la propagation métastatique. Direction : ROUTIER Sylvain et BURON Frédéric (ICOA)
- **BUISSON Pierre** : Synthèse d'oligosaccharides de sulfates de chondroïtine multivalents. Direction : LOPIN-BON Chrystel et SCHULER Marie (ICOA)
- **CHETTOUH Nadira** : Influence du taux d'oxygénation et du photovieillissement sur l'activité antioxydante des cellules de la peau. Direction : GRILLON Catherine (CBM)
- **CHEVAUX Laura** : Effets des bryophytes sur la régénération forestière naturelle en climat tempéré. Direction : BALANDIER Philippe et MARELL Anders (INRAE EFNO)
- **CIMORELLI Mélanie** : Marquages isotopiques d'antibiotiques : méthodologies d'hémisynthèses pour suivi thérapeutique médicamenteux. Direction : TATIBOUET Arnaud (ICOA)
- **COURS Jérémy** : Conséquences des dépérissements en forêts tempérées sur les structures d'habitat et la biodiversité. Direction : BOUGET Christophe et SALLE Aurélien (INRAE EFNO)
- **DE CONCINI Vidian** : Implication des cellules gliales et des processus neuro-inflammatoires dans les déficits cognitifs et sensoriels. Direction : MENUET Arnaud (INEM)
- **DONDASSE Ismaël** : Fonctionnalisation β -C(sp²)-H des énamides : Application à la synthèse d'hétérocycles azotés d'intérêt biologique. Direction : GILLAIZEAU Isabelle et NICOLAS Cyril (ICOA)
- **GROS Quentin** : Méthodologie de développement analytique en SFC et stratégies de couplages en SFE-SFC-MS en ligne. Direction : WEST Caroline et LESELLIER Eric (ICOA)
- **MOLINEAU Jérémy** : Développement de nouvelles méthodologies chromatographiques pour l'analyse de petites (bio) molécules d'intérêt pharmaceutique. Direction : WEST Caroline (ICOA)
- **NDIAYE Moussa** : Synthèse de composés hétéroaromatiques polyazotés tricycliques et pentacycliques et caractérisation de leurs propriétés de fluorescence. Direction : SUZENET Franck et HIEBEL Marie-Aude (ICOA)
- **TOMAS Josip** : Le réarrangement de Lossen enzymatiquement induit, comme outil de bio-conjugaison et de marquage sélectif. Direction : TATIBOUET Arnaud et SCHULER Marie (ICOA)
- **TORUN Damla** : Vers la synthèse d'alcaloïdes indolo-monoterpéniques à activité anti-tumorale pour une application en ingénierie métabolique. Direction : GILLAIZEAU Isabelle (ICOA)
- **URVOIS Teddy** : Structure génétique et modélisation de la distribution des populations de deux espèces invasives de *Xylosandrus* (Scolytinae: Xyleborini) : deux espèces proches aux histoires d'invasion différentes. Direction : AUGER-ROZENBERG Marie-Anne et KERDELHUE Carole (INRAE URZF)
- **VENA Vittoria** : Kits LEctPROFILE : vers un contrôle de qualité et de nouvelles applications potentielles. Direction : LANDEMARRE Ludovic (ICOA)

Site de Tours

- **ABBOUD Layal** : L'acquisition de l'arabe libanais: émergence et maturité syntaxique chez l'enfant avant l'âge de 3-6. Direction : TULLER Laurice et CHOUEIRI Lina (iBrain)
- **ACCROMBESSI Georgine** : Trouble dépressif caractérisé à l'adolescence : profils comportementaux, neuraux et intervention de neuromodulation dans des modèles murins. Direction : BELZUNG Catherine (iBrain)
- **AIT MOHAMED Amar Imene** : Conception et production de différents formats d'anticorps armés innovants pour cibler le cancer du sein her2+. Direction : JOUBERT Nicolas (GICC)
- **ALSAYED Anas Mohammed** : Abdallah Hibiscus sabdariffa L. dans Le traitement des troubles cardiovasculaires : Une approche pharmacologique des effets vasculaires. Direction : MAUPOIL-DAVID Véronique (T2I)
- **ALTINE SAMEY Rayhanatou** : Recherche de biomarqueurs dans la perspective d'un diagnostic précoce et d'une meilleure compréhension de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer: Etude translationnelle d'une approche métabolomique de l'animal à l'homme. Direction : CHALON Sylvie (iBrain)
- **BAILLOU Ambre** : Contrôle de la cryptosporidiose des ruminants : De la caractérisation des phagocytes mononucléés de l'intestin à l'immunostimulation avec des produits dérivés de levures. Direction : LAURENT Fabrice et LAMANDE Sonia (ISP)

- **BAILLY Matthieu** : Optimisation et apports de la scintigraphie dynamique de perfusion avec mesure des flux et réserve coronaires dans la stratégie de dépistage de l'ischémie myocardique.
Direction : SANTIAGO-RIBEIRO Maria-Joao et ANGOULVANT Denis (iBrain)
- **BELLENGER Léo** : Farnésylation de protéines : rôle dans la régulation du métabolisme primaire chez *Arabidopsis thaliana*.
Direction : PICHON Olivier et DUTILLEUL Christelle (BBV)
- **BERGER Quentin** : Impact de l'introduction en sélection de nouveaux critères d'efficacité alimentaire sur la durabilité de la production du poulet de chair.
Direction : GRASTEAU Sandrine et DUVAL Elisabeth (BOA)
- **BIGOT Paul** : Impact de la surexpression de la cathepsine S sur la barrière épithéliale pulmonaire au cours de la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO).
Direction : LALMANACH Gilles (CEPR)
- **BOISSEAU Michel** : Résilience des communautés de cyathostomes et du microbiote digestif du cheval au traitement anthelminthique.
Direction : SALLÉ Guillaume (ISP)
- **BONGRANI Alice** : Rôle des adipocytokines dans l'obésité, l'insulino-résistance et leurs conséquences sur la fertilité.
Direction : DUPONT Joëlle (PRC)
- **BOURDIN-PINTUELES Alexandra** : Caractérisation du modèle rongeur prénatal VPA : Hypothèses physiopathologiques d'origines maternelles dans le développement d'un phénotype de Troubles du Spectre de l'Autisme.
Direction : MAVEL Sylvie et GALINEAU Laurent (iBrain)
- **BUFO Maria Rosa** : Le système nerveux autonome dans l'autisme : état basal et réactivité au toucher social.
Direction : WARDAK Claire (iBrain)
- **CANTIN Pauline** : Vaccination contre la toxoplasmose des animaux de la faune sauvage des parcs zoologiques Étude de la réponse immunitaire induite par un candidat vaccin sous-unitaire.
Direction : DIMIER-POISSON Isabelle et MOIRE Nathalie (ISP)
- **CERQUEIRA DE ARAUJO Alexandra** : Evolution de symbioses virales récentes au sein de guêpes parasitoïdes *Camponotus*.
Direction : HUGUET Elisabeth et JOSSE Thibaut (IRBI)
- **CHARUEL Noémie** : Anticorps anti-FP4 et activation plaquettaire : Développement d'un test fonctionnel innovant pour le diagnostic des Thrombopénies Induites par l'Héparine.
Direction : POUPLARD Claire et CARLO Audrey (GICC)
- **CHEVILLARD Pierre-Marie** : Régulation saisonnière de la plasticité cellulaire de l'hypothalamus mediobasal chez la brebis.
Direction : MIGAUD Martine (PRC)
- **CONDE Cyril** : Caractérisation génomique et phylogénomique de *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* : portrait des souches qui circulent dans les élevages laitiers du grand Ouest de la France.
Direction : BIET Franck (ISP)
- **DEL GENIO Valentina** : Nanovecteurs dynamiques à base de peptides pour les médicaments anticancéreux et antimicrobiens.
Direction : CHOURPA Igor et GALDIERO Stefania (NNS)
- **DEROUIN Flavie** : Rôle du beta Nerve Growth Factor et du système à kisspeptine dans l'induction de l'ovulation chez deux espèces à ovulation spontanée : la souris et le cheval.
Direction : DUITTOZ Anne et BELTRAMO Massimiliano (PRC)
- **DUGARD Amandine** : Applicabilité des résultats des essais randomisés en médecine générale.
Direction : DIBAO-DINA Clarisse et GIRAUDEAU Bruno (SPHERE)
- **DURAND Marie-Alice** : Evaluation d'EZH2, une enzyme de régulation épigénétique comme facteur d'agressivité et cible thérapeutique dans le carcinome à cellules de Merkel.
Direction : TOUZE Antoine et KERVARREC Thibault (ISP)
- **ELDERDERI MOHMED ABDELRHMAN Suha** : Explorer les analyses quantitatives par spectroscopie vibrationnelle dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique.
Direction : BONNIER Franck et ELBASHIR Ahmed (NNS)
- **ELJACK Sahar** : Combination of siRNA and chemotherapy for an efficient approach of HER2 breast cancer therapy PhD Project.
Direction : ALLARD-VANNIER Emilie et FAGGAD Areeg (NNS)
- **ESNAULT Clara** : Ciblage du CD56 comme option thérapeutique dans le carcinome à cellules de Merkel.
Direction : GUYETANT Serge et SCHRAMA David (ISP)
- **GARNIER Simon** : Exploration et diversification moléculaire en série pyrrolo[2,3-d][1,2,3]triazole et thieno[2,3-b]pyrrole : Application à la synthèse de ligands d'Ahr pour le développement de médicaments radiopharmaceutiques fluorés en imagerie TEP.
Direction : VERCOUILLIE Johnny et BURON Frédéric (iBrain)
- **GERGES Perla** : Les troubles du spectre autistique au Liban: une étude épidémiologique et génétique.
Direction : ANDRES Christian et HLEIHEI Walid (iBrain)
- **HAOUARI Shanez** : Rôle de la protéine NEDL1 dans la physiopathologie de la Sclérose Latérale Amyotrophique.
Direction : ANDRES Christian et VOURC'H Patrick (iBrain)
- **HASHIM Omar** : Molecular and Functional Characterization of cys-loop ligand-gated ion channels of the human louse (*Pediculus humanus*).
Direction : DUPUY-PAPIN Catherine et DEBIERRE-GROCKIEGO Françoise (ISP)
- **IAZOURENE Tarik** : Influence de paramètres acoustiques sur l'efficacité de la neurostimulation ultrasonore : dispositif expérimental et étude préclinique.
Direction : BOUAKAZ Ayache et ESCOFFRE Jean-Michel (iBrain)

- **JABBOUR Nancy** : Caractérisation des ARN régulateurs dépendants du système à deux composants CiaRH chez *Streptococcus agalactiae*.
Direction : LARTIGUE Marie-Frédérique (ISP)
- **JAMI Ludovic** : Approche multiéchelle en écologie physique des insectes.
Direction : CASAS Jérôme et DUFRECHE Jean-François (IRBI)
- **KLEIBER Aude** : Étude de la prévisibilité de deux événements – nourrissage et diffusion de bulles – comme stratégie d'enrichissement cognitif pour améliorer le bien-être des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) en élevage.
Direction : CALANDREAU Ludovic et GUESDON Vanessa (PRC)
- **KOCZERKA Michael** : Distribution, conditions d'expression et cellules cibles des facteurs d'entrée de *Salmonella*.
Direction : PAYANT Isabelle et GREPINET Olivier (ISP)
- **LAMAMY Juliette** : Variation de l'expression du FcRn au cours de la différenciation des macrophages : rôle de l'autophagie.
Direction : GOUILLEUX Valérie (GICC)
- **LE TILLY Olivier** : Élimination des anticorps monoclonaux par leur cible : étude par modélisation pharmacocinétique.
Direction : TERNANT David et PAINTAUD Gilles (T2I)
- **LEDUCQ Sophie** : Aspects méthodologiques et statistiques des « within-person randomised trials » évaluant un traitement topique en dermatologie.
Direction : MARUANI-RAPHAEL Annabel et GIRAUDEAU Bruno (SPHERE)
- **MARTIN Killian** : Complexité vocale et contrôle cognitif chez le corbeau freux (*Corvus frugilegus*).
Direction : DUFOUR Valérie et OBIN Nicolas (PRC)
- **MERGAULT Coralie** : Ciblage de régulateurs du cytosquelette d'actine pour le traitement de la fibrose pulmonaire.
Direction : PLANTIER Laurent (CEPR)
- **MOHAMMADI Seyyedmohammad** : Développement d'un atlas IRM multi-échelle du tronc cérébral humain.
Direction : Christophe DESTRIEUX (iBrain)
- **NGO NTJAM Nadège** : Étude des effets indésirables systémiques des médicaments anti-VEGF administrés par voie intra-vitréenne.
Direction : ANGOULVANT Theodora et PAINTAUD Gilles (T2I)
- **PAILLER Louis** : Communication sociale chez les termites : Signaux impliqués dans la division des tâches reproductrices.
Direction : LUCAS Christophe (IRBI)
- **PONS Marine** : Rôle de la réponse SOS dans le transfert conjugatif et le maintien dans le génome de *Salmonella* Genomic Island 1.
Direction : DOUBLET Benoît et CLOECKAERT Axel (ISP)
- **PRESSET Antoine** : Étude des conséquences neurophysiologiques de l'ouverture de la barrière hématoencéphalique par sonoporation.
Direction : ESCOFFRE Jean-Michel et NADAL-DESBARATS Lydie (iBrain)
- **RAMBAULT Marion** : Rôle des neutrophiles dans le contrôle des mammites chez l'animal cible et modèle.
Direction : WINTER Nathalie et REMOT Aude (ISP)
- **ROUX Anne-Emmanuelle** : Rôle(s) de CcpA dans la physiologie et l'adaptation à l'hôte du pathogène *Streptococcus agalactiae*.
Direction : MEREGHETTI Laurent et CAMIADE Emilie (ISP)
- **SIWIASZCZYK Marine** : Plasticité anatomique des régions cérébrales associées aux comportements adaptatifs.
Direction : CHAILLOU Elodie et LOVE Scott (PRC)
- **SMIRNOV Mykyta** : Étude anatomique multimodale de la vascularisation de la substance blanche cérébrale
Direction : DESTRIEUX Christophe (iBrain)
- **STELLA Aline** : Analyse multivariée des images hyperspectrales Raman : application à l'étude des dynamiques moléculaires de la barrière cutanée.
Direction : TAUBER Clovis et BONNIER Franck (iBrain)
- **THIERREE Sarah** : Étude des thérapies de potentialisation dans le traitement du trouble de stress post-traumatique.
Direction : WISSAM El-Hage (iBrain)
- **TREGUIER Yannick** : Étude de l'interaction de l'apolipoprotéine E avec le virus de l'hépatite E et le virus Zika.
Direction : ROINGEARD Philippe (MAVIVH)
- **VIGNAULT Claire** : Effets du Bisphénol S sur les cellules de la reproduction femelle et implication du stress oxydant comme mécanisme physiopathologique
Direction : GUERIF Fabrice et MAILLARD-BOTINEAU Virginie (PRC)
- **VILIMOVA Iveta** : Développement de nanosondes pour la détection de miRNA dans des fluides biologiques.
Direction : HERVE-AUBERT Katel et CHOURPA Igor (NNS)

Symbiose arbres-champignons : découverte du rôle de l'épigénétique

L'ectomycorhize est une symbiose établie entre les racines des arbres et les champignons du sol. Cette symbiose est cruciale pour la nutrition des arbres, notamment l'absorption de l'eau et leur capacité à s'adapter à leur environnement.

Pour la première fois, deux équipes de chercheurs d'INRAE, de l'université d'Orléans et de l'université de Lorraine ont montré, sur le peuplier, que l'établissement de la symbiose faisait intervenir l'épigénétique. L'ADN contient l'information génétique qui définit chaque être vivant. L'épigénétique est un processus qui permet de contrôler de manière héréditaire l'activité des gènes nécessaires pour s'adapter en fonction de l'environnement.

Les chercheurs ont utilisé des lignées de peuplier dont la régulation de la méthylation de l'ADN (un phénomène épigénétique) a été modifiée. Les lignées moins méthylées pour leur ADN génomique ont montré une baisse du potentiel de mycorhization, jusqu'à 40% pour une des lignées. Ces résultats suggèrent un rôle central de la méthylation de l'ADN de l'arbre hôte dans la capacité à former l'association symbiotique et donc à assurer un bon développement de l'arbre. Un remodelage de l'ADN du partenaire fongique induit par l'hôte a également été remarqué.



Vigneaud J et al, New Phytol. (2023) <https://doi.org/10.1111/nph.18734>

J-C.C.

Le génome géant de la féverole enfin séquencé

Le journal Nature du 23 mars nous apprend qu'un consortium international, comprenant des chercheurs INRAE, est parvenu à assembler et annoter pour la première fois la séquence du génome géant de la féverole. Cette légumineuse cultivée, aux graines riches en protéines et ne nécessitant pas d'engrais azotés, présente de nombreux atouts pour des systèmes agricoles respectueux de l'environnement.



Vicia faba L. est connue sous le nom de féverole quand les graines sont petites ou de fève, quand les graines sont plus grandes. Elle est notamment capable de fixer l'azote atmosphérique et de se procurer des nutriments grâce à des interactions bénéfiques avec des bactéries ou des champignons du sol.

Reconstituer la séquence du génome a été un vrai défi puisqu'il est constitué de 13 milliards de bases nucléiques, soit au moins 4 fois plus grand que le génome humain. L'information génétique est portée sur seulement 6 paires de chromosomes. Le chromosome 1 (le plus long) fait à lui seul la taille des 23 chromosomes du génome humain. C'est un déséquilibre dans les taux de multiplication et d'élimination de certaines des séquences répétées qui a été identifié comme étant à l'origine de l'expansion de la taille du génome de la féverole.

Cette étude, mettant en évidence les gènes contrôlant des caractères d'intérêt, ouvre de nouvelles perspectives permettant d'améliorer la performance des variétés vis-à-vis des aléas climatiques ainsi que la valeur nutritionnelle des graines.

Jayakodi M. et al. Nature (2023). <https://doi.org/10.1038/s4158>

J-C.C.

5^e Labellisation pour le pôle de compétitivité Cosmetic Valley

Roland Lescure, Ministre délégué chargé de l'Industrie, a annoncé le 27 mars dernier, aux côtés d'Harold Huwart, Vice-président de la Région Centre-Val de Loire, les lauréats des pôles de compétitivité. Cosmetic Valley est ainsi labellisé pour la cinquième fois par l'Etat pour coordonner la filière parfumerie-cosmétique et contribuer au renforcement de sa compétitivité.

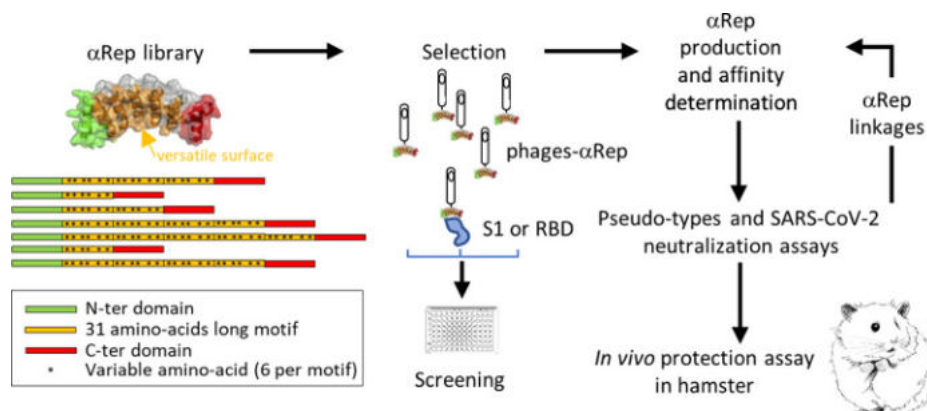


Cosmetic Valley dont, rappelons-le, le siège est à Chartres, est le premier réseau mondial en parfumerie-cosmétique, coordinateur de la filière française. L'association rassemble l'ensemble des savoir-faire métiers, de la culture des plantes jusqu'aux produits finis. Au sein de sa mission on trouve le souci de renforcer la visibilité et l'attractivité des laboratoires de recherche en portant des partenariats de recherche et de développement public/privé au sein de la filière parfumerie-cosmétique.

J.-C.C.

Les α Reps, nouvelle biotechnologie pour bloquer la multiplication du SARS-CoV-2

La liaison de la protéine Spike du SARS-CoV-2 à l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) favorise l'entrée du virus dans la cellule. Le ciblage de cette interaction représente une stratégie prometteuse pour la création d'antiviraux. En criblant une bibliothèque de séquences de protéines biosynthétiques construites sur un échafaudage rigide alpha-hélicoïdal de type HEAT (appelé α Reps), des candidats reconnaissant le domaine de liaison du récepteur de l'épi (RBD) ont été sélectionnés. Deux d'entre eux (F9 et C2) lient le RBD



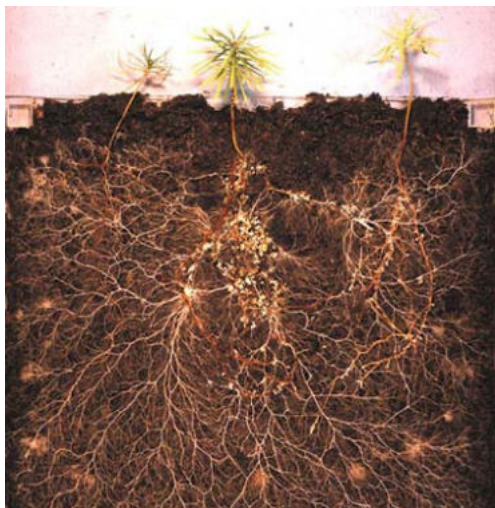
avec des affinités de l'ordre du nM, présentant une activité de neutralisation *in vitro* et reconnaissant des sites distincts, F9 chevauchant le motif de liaison de l'ACE2. La protéine de fusion F9-C2 et une forme α Rep trivalente (C2-foldon) présentent des affinités de 0,1 nM et une CE50 de 8-18 nM pour la neutralisation du SARS-CoV-2. Chez le hamster, l'instillation de F9-C2 dans la cavité nasale avant ou pendant les infections a réduit efficacement la répllication d'une souche de SARS-CoV-2 portant la mutation D614G dans l'épithélium nasal. En outre, F9-C2 et/ou C2-foldon ont efficacement neutralisé les variantes du SARS-CoV-2 (y compris les variantes delta et omicron) avec des valeurs EC50 allant de 13 à 32 nM. Grâce à leur grande stabilité et à leur puissance élevée contre les variantes du SRAS-CoV-2, les α Reps constituent un outil prometteur pour les traitements du SRAS-CoV-2 visant à cibler la cavité nasale et à atténuer la dissémination du virus dans l'environnement proximal.

Thebault S. et al. *PLOS Pathogens* 18(9) : e1010799. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.101079>

J.-C.C. & B.C.

Des gènes au microbiote des plantes

Comme les humains et les animaux, les plantes possèdent un microbiote composé de multiples microorganismes qui s'organisent en communautés avec des relations de compétition, de prédation ou de symbiose. La présence de certains microbes au sein des tissus des plantes, ainsi que leur diversité, peut avoir une influence bénéfique pour la plante. Cela lui confère par exemple une meilleure capacité à fixer les nutriments ou à mieux se défendre contre des organismes pathogènes. Inversement, est-ce que la plante peut influencer la composition de son microbiote ?



Une équipe de recherche menée par l'université de Chicago et impliquant l'INRAE, a étudié si la part de variabilité génétique au sein d'une espèce végétale exerçait un contrôle sur la composition de son microbiote foliaire.

Ils ont semé des copies génétiquement identiques de 200 génotypes de l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana* dans des dispositifs expérimentaux répartis sur quatre sites au cours de deux années. Les scientifiques ont collecté les feuilles de près de 8 000 plantes et caractérisé les communautés microbiennes grâce à la méthode de séquençage ADN de métabarcoding qui permet d'analyser l'ADN d'un échantillon dans sa globalité pour identifier les différentes espèces d'organismes présentes. Ils ont utilisé plus de 20 000 des plantes restantes pour analyser le succès reproducteur estimé à travers la production de graines.

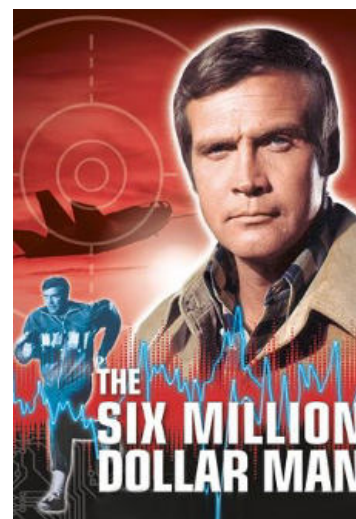
Ces travaux mettent en évidence que les différences génétiques entre plantes d'une même espèce influencent la composition du microbiote. Les communautés microbiennes s'organisent autour de microorganismes structurants. Or les résultats de l'étude montrent que c'est sur ceux-ci que l'influence du génotype des plantes est la plus grande.

Brachi B et al. PNAS, 119 (30), <https://doi.org/10.1073/pnas.2201285119>

J.-C.C.

L'homme bio-ionique !!! Vous avez dit un mythe ?

Une lésion de la moelle épinière interrompt la communication entre le cerveau et la région de la moelle épinière qui produit la marche, ce qui entraîne une paralysie. C'est exactement ce qui est arrivé à Gert-Jan Oskam suite à un accident de vélo. Des chercheurs suisses du NeuroX Institute de l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne et français de l'Université Grenoble-Alpes ont rétabli cette communication grâce à un pont numérique entre le cerveau de Gert-Jan Oskam et sa moelle épinière et a permis à ce patient atteint de tétraplégie chronique de se tenir debout et de marcher naturellement dans un environnement communautaire. Cette interface cerveau-moelle épinière (BSI) est constituée de systèmes d'enregistrement et de stimulation entièrement implantés qui établissent un lien direct entre les signaux corticaux et la modulation analogique de la stimulation électrique épидurale ciblant les régions de la moelle épinière impliquées dans la production de la marche. Un BSI très fiable est calibré en quelques minutes. Cette fiabilité est restée stable pendant un an, y compris lors d'une utilisation indépendante à domicile. Gert-Jan Oskam déclare que le BSI lui permet de contrôler naturellement les mouvements de ses jambes pour se tenir debout, marcher, monter les escaliers et même traverser des terrains complexes. De plus, la neu-





Un accident de vélo a laissé Gert-Jan Oskam, 40 ans, paralysé par une lésion de la moelle épinière. En compagnie d'un chercheur, il met à l'épreuve une interface cerveau-épine dorsale qui lui a rendu une partie de sa capacité à marcher.

roréhabilitation soutenue par la BSI a amélioré la récupération neurologique. Après un programme d'entraînement à la « neuro-réhabilitation » pendant l'utilisation de l'appareil, Gert-Jan Oskam a retrouvé la capacité de marcher avec des béquilles sur le sol, même lorsque l'interface cerveau-épine dorsale était désactivée. « Cela suggère que de nouvelles connexions nerveuses se sont développées », expliquent les chercheurs. L'ampleur de la récupération d'Oskam lui a permis d'améliorer sa qualité de vie, notamment en se déplaçant de manière autonome dans la maison ou en se tenant à un bar pour boire un verre avec

des amis. Ce pont numérique établit un cadre pour restaurer le contrôle naturel des mouvements après une paralysie. La suite de ces travaux passe par une miniaturisation du dispositif BSI.

Même si certains penseront que nous en sommes au stade des frères Wright et du vol motorisé, ces travaux constituent un grand pas vers le traitement de la paralysie de la moelle épinière. Peut-être faudra-t-il soutenir ces recherches bien au-dessus de six millions de dollar...

B.C.

Pour en savoir plus :

H. Lorach et al. [Walking naturally after spinal cord injury using a brain-spine interface](#). *Nature*. Published online May 24, 2023. doi: 10.1038/s41586-023-06094-5.

A. Rowald et al. [Activity-dependent spinal cord neuromodulation rapidly restores trunk and leg motor functions after complete paralysis](#). *Nature Medicine*. Vol. 28, February 2022, p. 260. doi: 10.1038/s41591-021-01663-5.

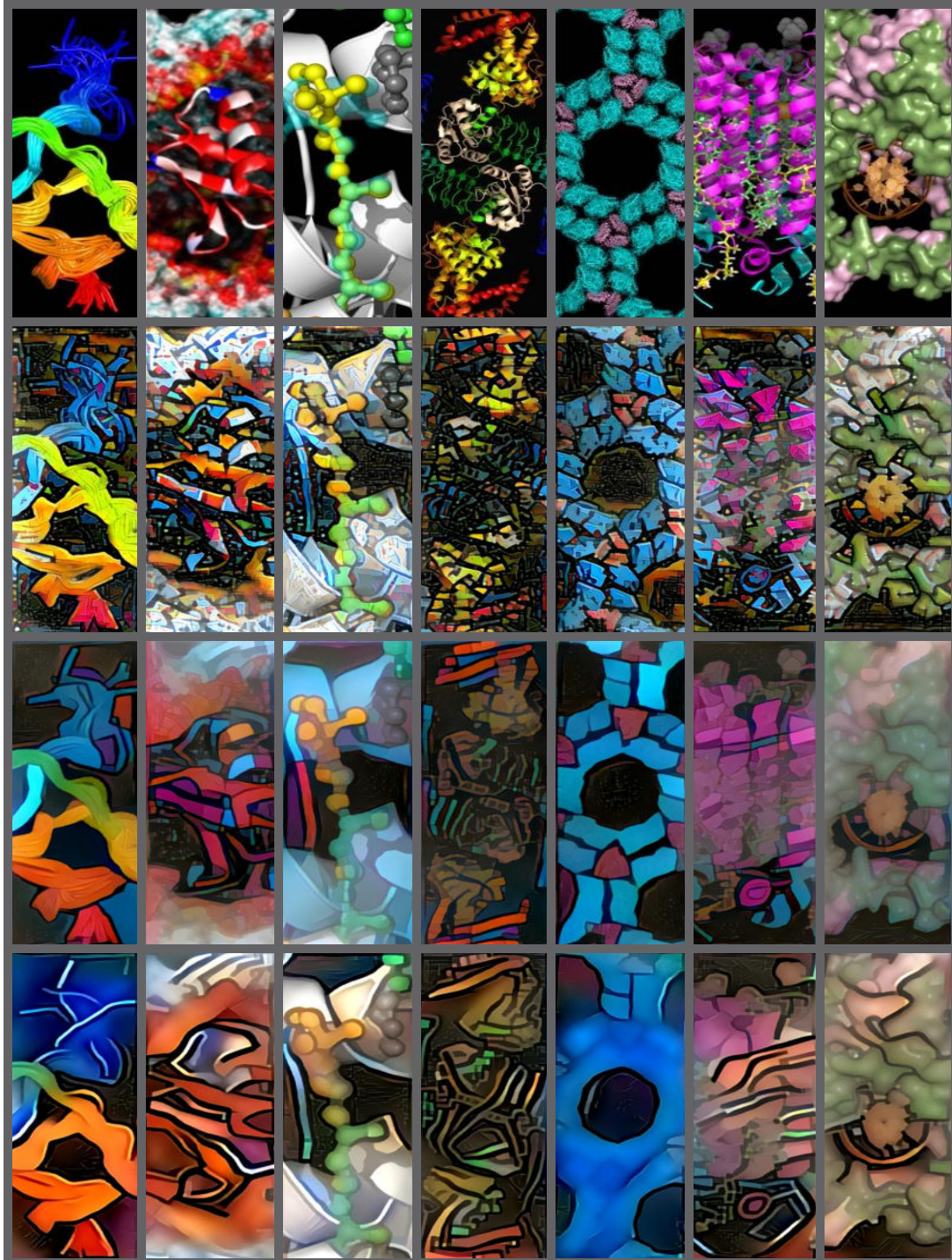
Pour ceux qui ont toujours voulu tout savoir sur l'inflammation, rendez-vous le 10 novembre à l'Institut Pasteur



Pour plus d'information :

[Le GREMI \(Groupe de Recherche et d'Etude des Médiateurs de l'Inflammation\) organise une journée sur l'apoptose le 10 Novembre 2023 à l'institut Pasteur \(Paris\)](#)





19 - 20 Octobre 2023



La Ferme de Courcimont, Nouan-le-Fuzelier (41)



*Avec la participation de l'Ecole Doctorale 549
Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant (SSBCV)*

