




# Colloque IBSAM

Jeudi 9 juin 2022

8h15-17h45

Pôle numérique du Bouguen

---

	<p>Colloque IBSAM Jeudi 9 juin 2022</p>
---	---

**Matin**

- 8h15-8h30      Accueil – mise en place des posters
- 8h30-8h45      Mots d'accueil
- 8h45-9h30      Communications orales session 1
- Boudigou Marina**, LBAI, *Étude de l'hétérogénéité phénotypique et fonctionnelle des lymphocytes B régulateurs chez l'Homme*
- Soubise Benoit**, GGB, *Characterization of RBM22 and SLU7 loss effect on del(5q) Myelodysplastic Syndromes*
- Bataille Adeline**, LIEN, *Etude de l'implication des cellules de Merkel dans l'initiation de l'alloknésie*
- 9h30-10h00      Projet financé par l'IBSAM  
**Orsat Jérémy**, ORPHY  
*La transthyréline : son implication dans le développement de l'accident de décompression*
- 10h00-10h30      **Session Flash 1** : Présentations Flash 2 min + poster.
- Bahane Hajar**, LBAI, *La sévérité des maladies auto-immunes est associée à des acteurs environnementaux agissant sur le niveau de méthylation de l'ADN*
- Briset Aliénor**, GGB, *Etude des éléments cis-régulateurs du locus DFNB1 impliqué dans les surdités non-syndromiques*
- Chevet Baptiste**, LBAI, *Etude de l'expression de STIM1 à la membrane plasmique dans les maladies auto-immunes*
- Marie-Joseph Emilie**, LIEN, *Etude de l'expression de TRPV1 dans un modèle de souris psoriasis-like*
- Clepoint Benjamin**, CEMCA, *Synthèse de lipides aminoacyles bactériens bioinspirés*
- Hus Maela**, LBAI, *Evaluation de nouveaux anticorps monoclonaux ciblant STIM1 à la membrane plasmique pour le traitement de maladies auto-immunes rares*
- Le Goff Jocelyn**, CEMCA, *Compréhension et comparaison de la bioactivité de nouveaux agents cytotoxiques dérivés du tirazacyclononane (TACN) : action libre du no3py et ciblage spécifique du 6'-SL-no3py*
- 10h30-11h15      **Session poster et café**
- 11h15-12h15      **Alberto Bianco**
- Institut de biologie moléculaire et cellulaire, IBMC, Strasbourg  
« *When carbon nanomaterials marry biomedicine* »
- 12h15-13h30      **Pause déjeuner- libre/Amuse-bouche sur place**

## Après-midi

- 13h30-14h15 Communications orales session 2
- Graud Soizic**, LBAI, *Variables immunologiques associées à la toxicité des inhibiteurs de point de contrôle chez les patients atteints de cancer*
- Liparo Matthieu**, OPTIMAG, *Contrôle électrique du renversement de l'aimantation du FeGa dans un composite multiferroïque*
- Le Roy Marie**, CEMCA, *Imagerie 64Cu-TEP ciblée de CXCR4 par des radiopharmaceutiques synthétiques combinant chélateur du cuivre et petites molécules*
- 14h15-14h30 Présentation capsules vidéo
- 14h30-14h55 **Session Flash 2** : Présentations Flash 2 min + poster.
- Ballan Damien**, LUBEM, *Caractérisation du microbiote associé aux lieux de stockage de fruits et légumes frais chez le consommateur*
- Le Roux Chloé**, CEMCA, *Conception d'amphiphiles modulateurs de protéines membranaires*
- Mainguy Anthony**, LBAI, *Rôle de la signalisation calcique dans la différenciation et l'orientation fonctionnelle du Lymphocyte B*
- Loubières Alexandra**, CEMCA, *Chélates du 89Zr pour des méthodes de diagnostic innovantes*
- Nguyen Toan Bao Hung**, LUBEM, *Dynamique des populations de Fusarium spp. et des communautés microbiennes au cours du cycle du blé*
- Uguen Adrien**, CEMCA, *Complexes du fer des dérivés du TACN pour l'imagerie par résonance magnétique*
- 15h-15h45 Communications orales session 3
- Blotas Clara**, GGB, *Etude d'éléments cis-régulateurs du gène CFTR*
- Le Rochais Marion**, LBAI, *Caractérisation et comparaison approfondies des structures lymphoïdes tertiaires d'échantillons tissulaires colorectaux tumoraux et non tumoraux par système d'imagerie Hyperion*
- Hamon Nadège**, CEMCA, *Complexes de Ln(III) pour le diagnostic et la thérapie : IRM, imagerie optique et thérapie photodynamique à deux photons*
- 15h45-16h30 [Session poster et café](#)
- 16h30-17h30 **Guillaume Lenoir**  
Institut F. Joliot, I2BC@saclay  
« *Molecular mechanism of transbilayer lipid transport catalyzed by eukaryotic lipid flippases* »
- 17h30-17h45 Clôture, Annonce prix communication et prix flash, résultat AAP IBSAM

## **WHEN CARBON NANOMATERIALS MARRY BIOMEDICINE**

**Alberto Bianco**

Institut de biologie moléculaire et cellulaire, IBMC, Strasbourg

Over the past two decades, carbon-based nanomaterials, including fullerenes, carbon nanotubes, graphene, graphene oxide, carbon dots and others, have largely invaded the biomedical fields. The possibility to chemically modify these materials has further expanded their applications and enhanced their biocompatibility. A certain number of diseases remain still incurable, or require treatments that often provoke heavy side-effects or are only palliatives. Nanotechnologies based on carbon nanomaterials offer new possibilities and lot of hopes to tackle these diseases. My team has concentrated the investigations on the design of new multifunctional systems based on carbon nanomaterials for therapeutic and imaging applications and combination thereof. In this context, chemistry plays a fundamental role as it allows to conceive and prepare new conjugates endowed of advanced functionalities and properties. We have designed new multifunctional carbon nanohybrids and explored different types of chemical reactions to synthesize covalent and supramolecular conjugates in a precise and controlled manner. These conjugates have been used for therapeutic and imaging studies. An important issue related to carbon nanomaterials is the assessment of their biocompatibility and biodegradability profiles. We found how to render carbon nanotubes and graphene safer by appropriate chemical modifications, and we have studied the impact of these materials on immune cells to determine the potential toxicity risks and to propose how to modulate them. My presentation will cover some examples of multifunctional carbon nanomaterials as drug delivery systems for cancer therapy. I will illustrate how it is possible to design targeted systems that are traceable, biodegradable and exploitable for multimodal therapies (e.g., combined photothermal, photodynamic or chemodynamic therapies), while minimizing their toxic effects.

## **Molecular mechanism of transbilayer lipid transport catalyzed by eukaryotic lipid flippases**

**Guillaume Lenoir**

Lipid flippases of the P4-ATPase family are eukaryotic transporters responsible for the active transverse movement of lipids from the exoplasmic (out) to the cytosolic (in) leaflet of cell membranes, at the expense of ATP hydrolysis. They are for instance responsible for the strong asymmetric distribution of phosphatidylserine (PtdSer) toward the cytosolic leaflet in resting cells, where PtdSer plays fundamental cell signaling roles. Most P4-ATPases form complexes with proteins from the Cdc50 family, this interaction being essential for correct folding, delivery to the proper subcellular localization and for function of the mature complex.

In the last years, for detailed biochemical analysis and subsequent mechanistic investigation of P4-ATPase-dependent lipid transport across membranes, we sought to implement a robust system for the coordinated overexpression in *Saccharomyces cerevisiae* and for the purification of a yeast P4-ATPase-Cdc50 complex, Drs2-Cdc50. We identified the C- and N-termini of Drs2 as autoinhibitory elements and recapitulated in vitro the requirement for the lipid phosphatidylinositol-4-phosphate to elicit activity. As part of a collaborative work with the laboratory of Poul Nissen (University of Aarhus, Denmark), we obtained cryo-EM structures of the Drs2-Cdc50 complex covering multiple intermediates of the enzyme cycle, thereby providing strong molecular grounds for a detailed understanding of lipid transport by P4-ATPase lipid flippases. Based on these biochemical and structural investigations, I will outline the mechanism by which the yeast Drs2-Cdc50 lipid flippase are regulated and how this mechanism may be extended to the disease-relevant human lipid flippase ATP8B1-CDC50A.

## Conférence projet financé par l'IBSAM

### La transthyrétine : son implication dans le développement de l'accident de décompression

Jérémy Orsat<sup>a</sup>, Sébastien Artigaud<sup>b</sup>, Anthony Guerneq<sup>a</sup>, Jacky Lautridou<sup>d</sup>, Ingrid Eftedal<sup>e</sup>, Lyubisa Matitye<sup>e</sup>, Le Maréchal Cédric<sup>c</sup>, Pichereau Vianney<sup>b</sup>, François Guerrero<sup>a</sup>

- a- EA4324 – Optimisation des Régulations Physiologiques, Université de Bretagne Occidentale (UBO), Brest, France. [jeremy.orsat@univ-brest.fr](mailto:jeremy.orsat@univ-brest.fr)
- b- UMR 6539b – Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, Université de Bretagne Occidentale, CNRS/UBO/IRD/IFREMER, Brest, France
- c- UMR 1078 – Génétique, Génomique Fonctionnelle et Biotechnologies, Université de Bretagne Occidentale, INSERM, Brest, France
- d- NTNU - Université norvégienne des sciences et de la technologie, Trondheim, Norvège
- e- Unité Hyperbare, département de médecine, Mater Dei Hospital, Malte

L'accident de décompression (ADD) est un syndrome systémique survenant suite à une réduction de la pression environnementale. Bien que le déclenchement de l'ADD soit attribué à la formation de bulles dans l'organisme, d'autres mécanismes semblent participer à son développement. Une étude précédente a montré une modification du niveau de 4 protéines plasmatiques dont la quasi-disparition de la forme tétramérique de la transthyrétine (TTR) chez des rats souffrant d'un ADD. En l'absence d'ADD, ces changements protéiques sont absents chez les animaux ainsi que chez l'Homme post-plongée. Une analyse s'avère donc nécessaire afin de déterminer si cette modification protéique de la TTR est une cause ou bien une conséquence de l'ADD.

Les objectifs de notre étude étaient dans un premier temps de confirmer, chez l'Homme, les modifications du protéome plasmatique à la suite d'un ADD en portant une attention particulière sur la TTR. Dans un deuxième temps, nous avons voulu évaluer si la sensibilité à l'ADD pouvait être liée avec une modification de la TTR.

Pour répondre à ces objectifs, nous disposons de plasma prélevé à la suite d'une plongée chez 8 plongeurs présentant des symptômes de l'ADD (8 hommes ;  $42,6 \pm 15,3$  ans ; IMC :  $28,5 \pm 2,9$ ) et 8 plongeurs sans symptômes de l'ADD (6 hommes, 2 femmes ;  $37,9 \pm 7,0$  ans ; IMC :  $26,7 \pm 3,2$ ). Nous avons comparé les niveaux de protéines plasmatiques par électrophorèse bi-dimensionnelle et nous n'avons pas trouvé de différences significatives entre les plongeurs souffrant d'ADD et les plongeurs asymptomatiques. Pour étudier davantage les variations de TTR plasmatiques, nous avons réalisé un western blot qui semble montrer une tendance vers la diminution de la quantité de dimère chez les plongeurs accidentés.

Pour répondre au second objectif, nous avons comparé deux populations de rats qui diffèrent par leur sensibilité à l'ADD. Pour cela, nous avons utilisé une lignée de rats sélectionnés pour leur résistance à l'ADD qui présente, pour une même exposition hyperbare, un nombre de cas d'ADD 3 fois moins élevé par rapport aux rats Wistar. Nous avons dans un premier temps dosé par RT-qPCR la quantité d'ARNm de TTR dans le foie et les poumons à l'état basal. Nous avons réalisé ces dosages chez 6 mâles et 6 femelles Wistar ainsi que chez 6 mâles et 6 femelles résistants à l'ADD. Cette étude a révélé un effet de la résistance sur l'expression de l'ARNm de TTR au niveau des poumons (Kruskal-Wallis,  $p = 0,004$ ) sans montrer d'effet du sexe ( $p = 0,488$ ). Dans le foie, on remarque un effet de la résistance sur l'expression de l'ARNm de la TTR (ANOVA,  $p = 0,043$ ) ainsi que du sexe ( $p = 0,047$ ) mais pas d'interaction résistance\*sexe ( $p = 0,259$ ). Nous avons également séquencé par la méthode de Sanger la séquence codante du gène de la TTR afin d'identifier un potentiel variant associé à la

résistance à l'ADD. Nous avons mis en évidence une diminution de la fréquence d'apparition d'une mutation sur la 3<sup>e</sup> base du codon 46 chez la lignée résistante. La séquence codante de la TTR décrite dans les bases de données présente une cytosine au niveau de la 3<sup>e</sup> base du codon 46 qui code pour une valine. Notre séquençage a mis en évidence une substitution de cette cytosine par une thymine. Cette mutation est présente chez 40% des mâles résistants (n = 5), 33% des femelles résistants (n = 3) et chez 100% des mâles (n = 5) et des femelles (n = 5) Wistar. Toutefois, cette substitution ne change pas l'acide aminé, cette mutation est silencieuse.

Nos résultats ne permettent pas de mettre en évidence une réelle implication de la TTR dans la mise de place de l'ADD. Les modifications de TTR observées chez l'animal pourraient être une conséquence de l'ADD. Les plus faibles différences observées chez l'Homme seraient en partie expliquées par la très grande variabilité individuelle et la plus faible sévérité de l'ADD. Toutefois, les liens entre la TTR et l'inflammation pourraient être intéressants dans le cadre d'études complémentaires sur ce sujet.

## **Résumés « Communication orale »**



# Etude de l'implication des cellules de Merkel dans l'initiation de l'alloknésie

Adeline Bataille - Savattier<sup>a</sup>, Christelle LeGall<sup>a,b</sup>, Laurent Misery<sup>a,b</sup>, Matthieu Talagas<sup>a,b</sup>

a- Univ. Brest, LIEN, EA4685/UBO laurent.misery@chu-brest.fr

b- CHRU Brest, Département de dermatologie

Le prurit est une sensation déplaisante provoquant le besoin de se gratter en réponse à des stimuli chimiques (prurit chimique) ou mécaniques comme une légère pression exercée à la surface de la peau (prurit mécano-induit, PMI)(1). Au cours du prurit chronique, peut survenir l'alloknésie, PMI provoqué par des stimuli mécaniques légers qui, en situation physiologique, sont associées au tact fin. Ceci est lié à la sensibilisation au prurit. Les connaissances sur le PMI restent très limitées. L'implication des dômes tactiles (DT), récepteurs du tact fin, constitués de cellules de Merkel (CM) et de fibres nerveuses A $\beta$  reliées par des contacts synaptiques a toutefois été récemment rapportée. Une raréfaction des fibres A $\beta$  ou un défaut d'activation de ces dernières par les CM, déficientes en Piezo2, principal mécanorécepteur, est en effet responsable d'une levée d'inhibition du PMI chez les souris (2,3). Chez l'Homme, le profil d'activation des mécanorécepteurs cutanés responsables de la perception du PMI est évocateur d'une activation des fibres C (4). Etonnamment, les DT humains contiennent, à côté des fibres A $\beta$ , des fibres C et A $\delta$  dont le rôle reste incompris. Notre hypothèse est que les CM pourraient communiquer avec les fibres C et A $\delta$  présentes dans les DT par l'intermédiaire de synapses pour transmettre l'information « PMI » au système nerveux central. Pour la première fois, nous avons identifié en microscopie confocale, dans des peaux glabres et poilues de rats, des contacts entre des CM et des fibres C et A $\delta$ . Le caractère synaptique de ces contacts sera prochainement recherché avec l'identification, en microscopies confocale et électronique à transmission, de vésicules synaptiques dans les CM en regard de ces zones de contact.

## Références.

---

1- Dong, X., and Dong, X. (2018). Peripheral and Central Mechanisms of Itch. *Neuron* 98, 482–494.

2- Sakai, K., and Akiyama, T. (2019). Disinhibition of Touch-Evoked Itch in a Mouse Model of Psoriasis. *J. Invest. Dermatol.* 139, 1407–1410.

3- Feng, J., Luo, J., Yang, P., Du, J., Kim, B.S., and Hu, H. (2018). Piezo2 channel-Merkel cell signaling modulates the conversion of touch to itch. *Science* 360, 530–533.

4- Fukuoka, M., Miyachi, Y., and Ikoma, A. (2013). Mechanically evoked itch in humans. *Pain* 154, 897–904.

## Etude d'éléments cis-régulateurs du gène CFTR

Clara Blotas<sup>a</sup>, Mégane Collobert<sup>a</sup>, Ozvan Bocher<sup>a</sup>, Anaïs Le Nabec<sup>a</sup>, Emmanuelle Génin<sup>b</sup>,

Claude Férec<sup>a,c</sup> et Stéphanie Moisan<sup>a,c</sup>

a Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France

b Inserm, Univ Brest, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France

c Laboratory of Molecular Genetic and Histocompatibility, CHRU Brest, Bretagne, France

La mucoviscidose est une maladie génétique fréquente dans la population caucasienne ayant suscité de nombreux travaux de recherche. Bien que le diagnostic des patients a très largement évolué grâce à l'identification de nombreuses mutations dans le gène *CFTR*, pour certains patients atteints de mucoviscidose ou de formes frontières la corrélation entre le phénotype et le génotype reste non résolue.

Pour pallier à cela, ce projet a pour but de mettre en évidence des élément *cis*-régulateurs (CREs) pouvant expliquer le phénotype de cas non résolus. En effet, une altération de la régulation de gènes peut provoquer des pathologies, on parle d' « enhanceropathies ».

Afin d'étudier la régulation du gène *CFTR*, des tests d'activité par gène rapporteur et d'immunoprécipitation de la chromatine dans des cellules intestinales (Caco-2) ont permis de caractériser ces CREs (en cours de validation biologique par l'approche CRISPR/cas9). Ensuite, il s'agit de confirmer les interactions chromatiniennes (boucles d'ADN) par l'utilisation de technique de *Circularized Chromosome Conformation Capture* (4C).

Des éléments régulateurs au niveau des introns 24 et 26 ont nouvellement été mis en évidence avec une activité *enhancer* coopérative, s'ajoutant aux CREs identifiés dans les introns 1 et 12. Cela a permis de proposer un modèle tridimensionnel de régulation du gène *CFTR* au sein du locus. Par le séquençage de patients aux phénotypes extrêmes de potentiels variants régulateurs, diminuant l'expression du gène *CFTR*, ont été mis en évidence.

Ainsi ces travaux permettent de mieux comprendre l'organisation tridimensionnelle du locus *CFTR* afin d'améliorer la prise en charge des patients.

# Étude de l'hétérogénéité phénotypique et fonctionnelle des lymphocytes B régulateurs chez l'Homme

Marina Boudigou<sup>a,e</sup>, Magalie Michée-Cospolite<sup>a</sup>, Alexis Grasseau<sup>a</sup>, Quentin Simon<sup>a</sup>, Christelle Le Dantec<sup>a</sup>, Laëtizia Le Pottier<sup>a</sup>, Jacques-Olivier Pers<sup>b</sup>, Céline Delaloy<sup>c,e</sup>, Sophie Brouard<sup>d,e</sup>, Divi Cornec<sup>b</sup>, Sophie Hillion<sup>b,e</sup>

a- UMR1227, LBAI, Univ Brest, Inserm, Brest, France

b- UMR1227, LBAI, Univ Brest, Inserm, et CHU Brest, Brest, France

c- UMR1236, MOBIDIC, Univ Rennes, Inserm, Rennes, France

d- UMR1064 CRTI, Univ Nantes, Inserm, Nantes, France

e- LabEx IGO « Immunotherapy, Graft, Oncology », Nantes, France

Les lymphocytes B (LB) sont des acteurs clés de la réponse immunitaire humorale. En plus de leurs capacités à produire des anticorps et à présenter l'antigène aux lymphocytes T (LT), certaines sous-populations de LB sont douées de fonctions immunosuppressives leur permettant de contrôler l'inflammation et ainsi d'éviter des dommages tissulaires. Ces LB régulateurs (LBreg) regroupent de nombreuses sous-populations hétérogènes en termes de phénotypes, d'origines et de mécanismes immunosuppressifs<sup>1</sup>. A cette diversité s'ajoute le fait qu'aucun facteur de transcription unique et commun aux différentes sous-populations de LBreg n'a été identifié à ce jour, ce qui complique l'identification et le suivi de ces cellules dans les différents contextes physiologiques et pathologiques.

Ce projet a pour but d'approfondir la caractérisation de l'hétérogénéité des LBreg à l'échelle unicellulaire et d'étudier les programmes moléculaires impliqués dans le développement et les fonctions des LBreg chez l'Homme.

Pour ce faire, nous avons développé un modèle *in vitro* de co-culture de LB et LT conduisant à la génération de LBreg capables d'inhiber la prolifération des LT<sup>2,3</sup>. Des analyses préliminaires au niveau transcriptionnel, validées ensuite au niveau protéique par cytométrie, ont montré que l'acquisition de la fonction suppressive par les LB était associée à une augmentation de gènes clés liés à la différenciation des LB<sup>3</sup>. De façon intéressante, la polarisation des LB en LBreg coïncide avec une forte production d'IFN- $\gamma$  par les LT ; ce qui supporte l'idée qu'un micro-environnement pro-inflammatoire est nécessaire à l'induction des LBreg. Enfin, différentes sous-populations de LBreg productrices d'IL10 et/ou de granzyme B ont pu être mis en évidence dans ce même modèle, suggérant des origines distinctes à ces différentes sous-populations de LBreg. Par la suite, des analyses séquentielles à l'échelle unicellulaire par *single-cell RNA sequencing* nous permettront de mieux appréhender la dynamique moléculaire de la génération de ces différentes sous-populations de LBreg.

## Références.

1- Catalán D, Mansilla MA, Ferrier A, Soto L, Oleinika K, Aguillón JC, Aravena O. *Front Immunol.* **2021** 12:611795.

2- Simon Q, Grasseau A, Boudigou M, Le Pottier L, Bettachioli E, Cornec D, Rouvière B, Jamin C, Le Lann L; PRECISESADS Clinical Consortium; PRECISESADS Flow Cytometry Study Group, Borghi MO, Aguilar-Quesada R, Renaudineau Y, Alarcón-Riquelme ME, Pers JO, Hillion S. *Arthritis Rheumatol.*, **2021**, 73(8):1550-1561.

3- Michée-Cospolite M, Boudigou M, Grasseau A, Simon Q, Mignen O, Pers JO, Cornec D, Le Pottier L, Hillion S. *Front Immunol.* **2022** 13:818814.

# Variables immunologiques associées à la toxicité des inhibiteurs de point de contrôle chez les patients atteints de cancer

Soizic Garaud<sup>a</sup>, Marion Panhaleux<sup>b</sup>, Sandrine Aspeslagh<sup>c</sup>, Divi Cornec<sup>d</sup>, Bart Neyns<sup>e</sup>, Jacques-Olivier Pers<sup>f</sup>, Karen Willard-Gallo<sup>g</sup>.

a- Université de Brest, Lymphocytes B, Autoimmunité et Immunothérapies, UMR1227, INSERM, Brest, France, soizic.garaud@univ-brest.fr ;

b- Université Libre de Bruxelles, Molecular Immunology Unit, Institut Jules Bordet, Brussels, Belgium ;

c- Vrije Universiteit Brussel, Department of Medical Oncology, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgium ;

d- Université de Brest, Lymphocytes B, Autoimmunité et Immunothérapies, UMR1227, INSERM, Brest, France ;

e- Vrije Universiteit Brussel, Department of Medical Oncology, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgium ;

f- Université de Brest, Lymphocytes B, Autoimmunité et Immunothérapies, UMR1227, INSERM, Brest, France ;

g- Université Libre de Bruxelles, Molecular Immunology Unit, Institut Jules Bordet, Brussels, Belgium.

## Résumé

Les récents succès des inhibiteurs de points de contrôle immunitaires (ICI), tels que les anticorps anti-CTLA-4 et anti-PD1/PD-L1, ont radicalement changé le paysage thérapeutique en oncologie. Cependant, les ICI provoquent un risque important d'effets secondaires liés au système immunitaire, qui peuvent affecter plusieurs organes et présenter un large éventail de manifestations cliniques, allant de formes légères à mortelles, et dont les mécanismes immunitaires responsables sont inconnus. Dans le but de déchiffrer la réponse immunitaire, le sang de patients atteints de cancer traités par ICI a été caractérisé par cytométrie de flux et testé pour 70 auto-anticorps à l'apparition de la toxicité et comparé à l'état avant traitement. Parmi 98 patients traités par ICI, 26 ont développé au moins une toxicité de tout grade (le plus souvent des toxicités cutanées, gastro-intestinales, endocriniennes et pulmonaires) dont 3 de haut grade (colite, pneumonie et myosite). L'immunophénotypage a révélé une diminution des lymphocytes T CD8+ naïfs et mémoires centraux, associée à une augmentation des lymphocytes T CD8+ EMRA, des B mémoires activés et des cellules sécrétrices d'anticorps à l'apparition de la toxicité. De plus, les lymphocytes B transitionnels et CD5+ étaient significativement diminués chez les patients avec des toxicités de haut grade par rapport aux patients avec des toxicités de bas grade. Enfin, 25 % des patients avec toxicités ont présenté au moins un auto-anticorps avant le traitement, comme TIF1 $\gamma$ , SAE2, NXP-2 et SRP, non observés chez les patients sans toxicité. Nos données préliminaires révèlent des changements immunitaires dans le sang lors de l'apparition de la toxicité. Des recherches approfondies à l'aide de la cytométrie de masse seront réalisées sur les leucocytes et les tissus affectés afin d'avoir une approche globale d'identification de biomarqueurs des toxicités.

# Complexes de Ln(III) pour le diagnostic et la thérapie : IRM, imagerie optique et thérapie photodynamique à deux photons

N. Hamon,<sup>a</sup> L. Abad Galan,<sup>b</sup> M. Beyler,<sup>a</sup> M. Gary-Bobo,<sup>c</sup> O. Maury<sup>b</sup> et R. Tripier<sup>a</sup>

a- Univ Brest, UMR-CNRS 6521, CEMCA, 6 avenue Victor le Gorgeu, 29238 Brest, France.

b- Univ Lyon, ENS de Lyon, CNRS UMR 5182, Université Claude Bernard Lyon 1, 69342 Lyon, France

c- IBMM, Univ Montpellier, CNRS, ENSCM, Montpellier, France.

Les polyazamacrocycles sont reconnus pour former des complexes de coordination stables avec une large variété de cations métalliques. Parmi eux, le pycen s'est récemment avéré particulièrement intéressant pour la conception de complexes de lanthanides(III).<sup>1</sup> La *N*-régio-fonctionnalisation de ce macrocycle permet de contrôler le nombre de coordination du métal pour accéder à des complexes de Ln(III) luminescents pour l'imagerie optique ou à des chélates de Gd(III) monohydratés pour l'imagerie par résonance magnétique (IRM).<sup>1</sup> Cependant, l'imagerie de fluorescence est limitée par l'absorption et la diffusion de la lumière *in vivo* et donc une faible pénétration. Le développement de chromophores  $\pi$ -conjugués exploitant les avantages de l'excitation à deux photons (2P) (fenêtre de transparence biologique, haute résolution spatiale)<sup>2</sup> en tant qu'antennes pour l'imagerie optique ou comme sensibilisateurs pour la thérapie photodynamique (PDT) a donc été étudié.<sup>3</sup>

Forts de ces résultats, nous avons conçu des complexes de Ln(III) à base de pycen fonctionnalisé par des antennes  $\pi$ -conjuguées optimisées pour l'imagerie biphotonique<sup>4</sup> et nous avons aussi développé une sonde théranostique combinant l'IRM à une méthode de thérapie

innovante, la 2P-PDT (Figure 1).<sup>5</sup> Enfin, la *para*-fonctionnalisation du pycen a permis l'introduction d'une fonction de couplage pour le ciblage spécifique de ces sondes *in vivo*.

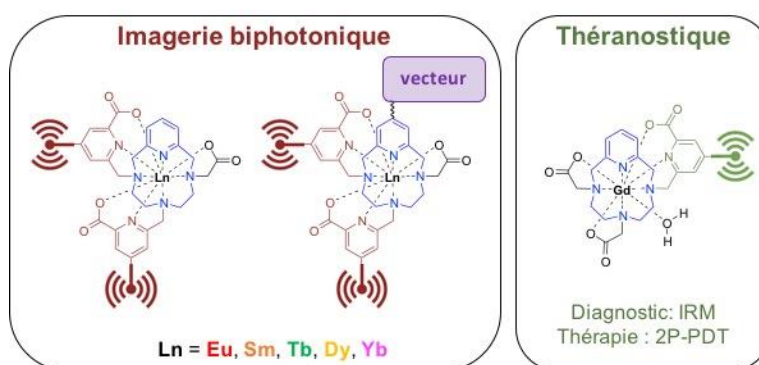


Figure 1 : Structures générales des complexes de Ln(III).

## Références.

1- a) C. Platas-Iglesias *et al*, *Inorg. Chem.*, **2018**, 57, 12, 6932-6945. b) C. Platas-Iglesias *et al*, *Chem. Eur. J.*, **2018**, 24, 13, 3127-3131.

2- a) P. N. Prasad *et al*, *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 1245-1330. b) H. L. Anderson *et al*, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, 48, 3244-3266.

3- a) C. Andraud, O. Maury, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2009**, 4357-4371. b) C. Andraud *et al*, *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, 10, 6275-6278. c) P. R. Ogilby *et al*, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 1134-1146.

4- a) R. Tripier *et al*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142, 10184-10197. b) R. Tripier *et al*, *Chem. Commun.*, **2018**, 54, 6173-6176.

5- R. Tripier *et al*, *Inorg. Chem. Front.*, **2021**, 8, 2213-2224.

# Caractérisation et comparaison approfondies des structures lymphoïdes tertiaires d'échantillons tissulaires colorectaux tumoraux et non tumoraux par système d'imagerie Hyperion

Marion Le Rochais<sup>ab</sup>, Patrice Hémon<sup>b</sup>, Jacques-Olivier Pers<sup>b</sup>, Arnaud Uguen<sup>ab</sup>

a- Univ. Brest, LBAI – Lymphocytes B, Autoimmunité et Immunothérapies, UMR 1227  
divi.cornec@chu-brest.fr

b- Service d'anatomie et cytologie pathologique, CHRU MORVAN

Les structures lymphoïdes tertiaires (SLT) sont des amas lymphoïdes retrouvées lors d'inflammations chroniques d'organes, notamment dans le côlon au cours des pathologies inflammatoires et cancéreuses. Ces SLT participent activement à l'environnement immunitaire inflammatoire et pourraient servir de biomarqueurs pronostiques et/ou prédictifs. Les SLT de tissus coliques pathologiques ont été étudiées par cytométrie de masse par imagerie Hyperion (Fluidigm) à travers un panel de 42 anticorps. Pour l'analyse des images, un pipeline basé sur le logiciel QuPath est utilisé. Des analyses non-supervisées (Rphenograph) et morphologiques semi-quantitatives sont menées. En ce qui concerne les pathologies considérées (5 maladies de Crohn (Crhn), 5 diverticulites chroniques (Divc), 12 cancers colorectaux avec (MSI) et sans instabilité des microsatellites (MSS), avec (-m) et sans métastase des ganglions lymphatiques (-nm)), les compositions cellulaires des SLT se regroupent par patient et non par pathologie. Les OLS sont structuralement plus organisés que les SLT, ces dernières semblent suivre une évolution progressive et ne répondent pas à une définition unique. La différence de composition des SLT pourrait avoir une signification diagnostique et pronostique, patient-dépendant représentant un enjeu dans la médecine personnalisée de demain.



**Figure:** Pipeline en 4 étapes menant à l'analyse non supervisée par clustering Rphenograph représentée en heatmap réalisé sur les 42 marqueurs utilisés en Hyperion où les SLT sont regroupées selon les pathologies dans lesquelles elles se trouvent (à droite), avec la composition des clusters (à gauche).

Crhn: Crohn; Divc: Diverticulite chronique; MSS: Cancer colorectal statut MSS (sans instabilité microsatellitaire); MSI: Cancer colorectal statut MSI (avec instabilité microsatellitaire); -nm: sans métastase; -m: avec métastase

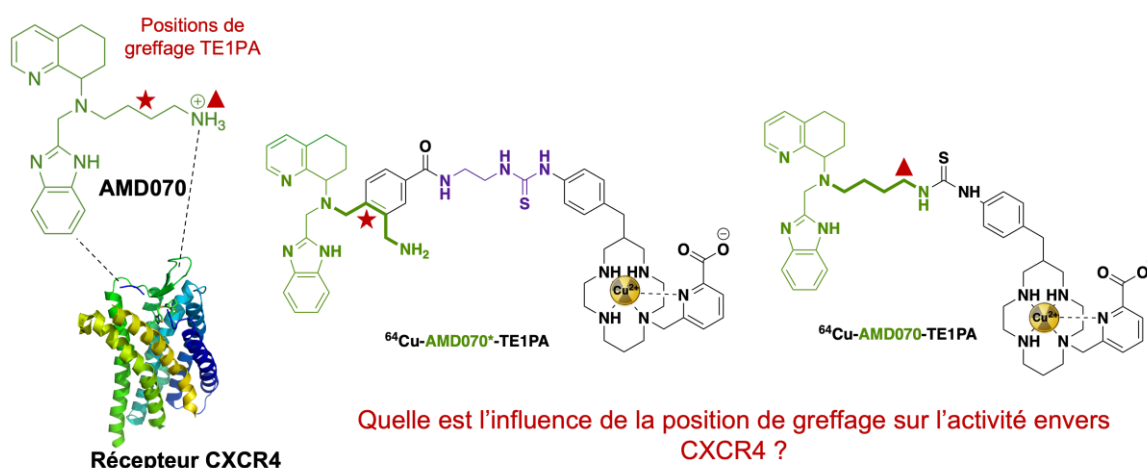
# Imagerie $^{64}\text{Cu}$ -TEP ciblée de CXCR4 par des radiopharmaceutiques synthétiques combinant chélateur du cuivre et petites molécules

Marie Le Roy,<sup>a</sup> Patricia Le Saëc,<sup>b</sup> Michel Chérel,<sup>b</sup> Alain Faivre-Chauvet,<sup>b</sup> Thibault Troadec<sup>a</sup> et Raphaël Tripier<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Univ. Brest, UMR CNRS 6521 CEMCA, 6 Avenue Victor le Gorgeu, 29238 Brest, France.

<sup>b</sup> Univ. Nantes, CRCINA, INSERM 1232–CNRS 6299, 8 quai Moncoussu, 44007 Nantes Cedex, France  
[marie.leroy@univ-brest.fr](mailto:marie.leroy@univ-brest.fr)

Le récepteur cellulaire CXCR4 est un marqueur prometteur en raison de sa surexpression dans 23 types de cancers. En considérant cette fonction critique, plusieurs antagonistes de CXCR4 ont été identifiés, tels que des anticorps et des dérivés peptidiques permettant une imagerie ciblée des cancers.<sup>[1]</sup> Nous proposons d'aller plus loin en ciblant CXCR4 avec des vecteurs organiques synthétiques, qui permettent une préparation plus aisée ainsi qu'une pharmacocinétique plus rapide des radioconjugués. Les vecteurs organiques seront greffés avec le TE1PA, un excellent chélateur bifonctionnel du  $^{64}\text{Cu}$  conçu par notre équipe, qui a surpassé le DOTA et le NOTA en imagerie  $^{64}\text{Cu}$  TEP de tumeurs sur des modèles murins.<sup>[2]</sup> L'AMD070, petit antagoniste organique de CXCR4,<sup>[3]</sup> sera d'abord conjugué au TE1PA *via* son amine primaire libre. Comme cette fonction est impliquée dans les interactions avec CXCR4, l'analogue AMD070\* a également été sélectionné pour fournir un site de conjugaison différent tout en préservant une amine primaire de même longueur de chaîne. Le radiomarquage au  $^{64}\text{Cu}$  ainsi que la purification des radiopharmaceutiques correspondants ont été entièrement optimisés grâce à une procédure simple et rapide. Des études *in vitro* sont en cours pour évaluer l'effet de cette stratégie de greffage sur le ciblage de CXCR4.



## Références

- [1] B. Debnath, S. Xu, F. Grande, A. Garofalo, N. Neamati, *Theranostics* **2013**, 3, 47–75.
- [2] A.-S. Navarro, T. Le Bihan, P. Le Saëc, N. L. Bris, C. Bailly, C. Saï-Maurel, M. Bourgeois, M. Chérel, R. Tripier, A. Faivre-Chauvet, *Bioconjugate Chem.* **2019**, 30, 2393–2403
- [3] R. M. Mosi, V. Anastassova, J. Cox, M. C. Darkes, S. R. Idzan, J. Labrecque, G. Lau, K. L. Nelson, K. Patel, Z. Santucci, R. S. Y. Wong, R. T. Skerlj, G. J. Bridger, D. Huskens, D. Schols, S. P. Fricker, *Biochemical Pharmacology* **2012**, 83, 472–479.

# Contrôle électrique du renversement de l'aimantation du FeGa dans un composite multiferroïque

M. Liparo<sup>1</sup>, W. Jahjah<sup>1</sup>, J.-Ph. Jay<sup>1</sup>, Y. Le Grand<sup>1</sup>, A. Fessant<sup>1</sup>, A.R.E. Prinsloo<sup>2</sup>, C.J. Sheppard<sup>2</sup>, V. Castel<sup>3</sup>, V. Vlaminc<sup>3</sup>, J. Bourhill<sup>3</sup>, A. Manchec<sup>4</sup>, D.T. Dekadjevi<sup>1,2</sup> et D. Spenato<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire OPTIMAG, EA 938, Dépt de Physique, Univ. de Bretagne Occidentale, 29200 Brest, France

<sup>2</sup>Cr Research Group, Dept of Physics, University of Johannesburg, Auckland Park 2006, South Africa

<sup>3</sup>IMT Atlantique et Lab-STICC (UMR 6285), CNRS, CS 83818, 29238 Brest Cedex 3, France

<sup>4</sup>Elliptika (GTID), 29200 Brest, France

Le contrôle électrique des nanostructures magnétiques a ouvert la voie, au cours de la dernière décennie, à une exploitation de matériaux dits multiferroïques (MF) (cohabitation au moins deux ordres ferroïques) pour leurs applications potentielles à faible coût d'énergie: mémoires magnétiques, capteurs de champs magnétiques, transformateurs, antennes, etc.[1]. Une voie très prometteuse est d'utiliser des multiferroïques composites, c'est à dire un matériau magnétostrictif (MST) couplé à un matériau piézoélectrique (PZ). Ainsi, dans le cas de l'effet magnétoélectrique inverse, un champ électrique appliqué au matériau piézoélectrique permet de contrôler les propriétés magnétiques du matériau MST

Notre étude se concentre sur le contrôle électrique du renversement de l'aimantation dans un multiferroïque extrinsèque: des couches ultraminces de FeGa [2] couplées à un piézoélectrique (PMN-PZT). Notre étude révèle un coefficient de couplage magnétoélectrique  $\alpha_{CME, \max} \approx 2.7 \times 10^{-6} \text{ s.m}^{-1}$  à température ambiante. Cette valeur est parmi les plus élevées mesurées actuellement sur d'autres systèmes multiferroïques. De plus, pour la première fois un comportement anisotrope  $\alpha_{CME}$  dans le plan est mis en évidence[3]. Nous présenterons une étude systématique du renversement de l'aimantation sous champ électrique qui démontre des modifications importantes de l'anisotropie magnétique dans le plan, avec une rotation de 90 degrés d'un axe préférentiel sous champ électrique (figure 1). Nous montrerons aussi le contrôle du renversement de l'aimantation par contraintes multiaxiales sur le FeGa déposé sur supports souples.

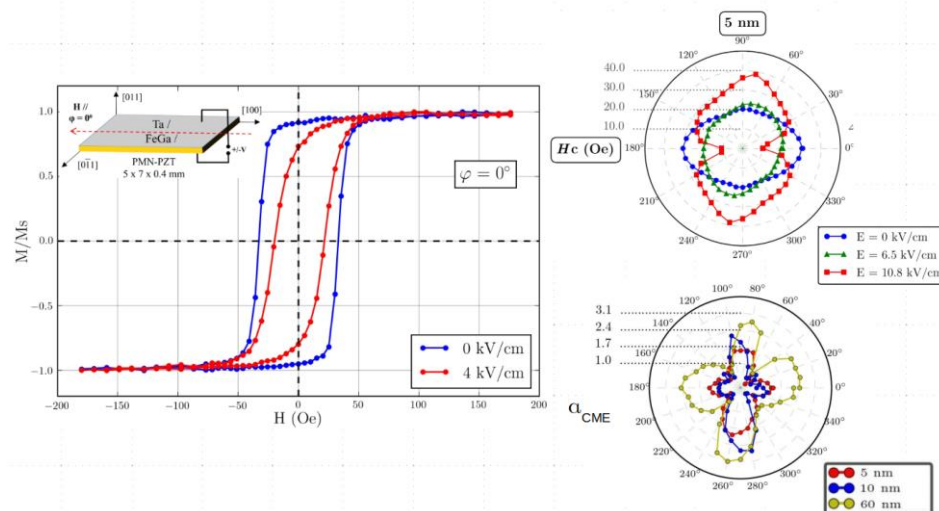


Figure 1: Gauche : Cycles d'aimantation avec et sans champ électrique appliqué. Droite : évolution azimutale du champ coercitif du FeGa (5 nm) et du coefficient de couplage magnétoélectrique pour 3 épaisseurs de FeGa  
Projet soutenu par l'Institut Brestois Santé Agro Matière (IBSAM) au travers du projet "MINOTAUR" (Magnetoelctric NanoStructures for ActUatoRs) ainsi que par la Région Bretagne

[1] M. Bibes and A. Barthélémy. Nature Materials, 7, 425, (2008).

[2] W. Jahjah et al. Physical Review Applied, 12, 024020, (2019)

[3] W. Jahjah et al. Physical Review Applied, 13, 034015 (2020)

[4] F. Le Gall et al, Phys. Rev. Applied 15, 044028 (2021)



# Characterization of RBM22 and SLU7 loss effect on del(5q) Myelodysplastic Syndromes

Benoît Soubise<sup>a</sup>, Eloïse Le Hir-Reynaud<sup>a</sup>, Yan Jiang<sup>b</sup>, Abraham Molina Mendoza<sup>a</sup>, David Rombaut<sup>d</sup>, Séverine Commet<sup>a,c</sup>, Nadia Guegannic<sup>a,c</sup>, Corinne Tous<sup>a,c</sup>, Laurent Corcos<sup>a</sup>, Michaela Fontenay<sup>d</sup>, Nathalie Douet-Guilbert<sup>a,c</sup>, Marie-Bérengère Troadec<sup>a,c</sup>

a- Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France, benoit.soubise@univ-brest.fr

b- Department of Hematology, The First Hospital of Jilin University, Changchun, China

c- CHRU Brest, Service de génétique, laboratoire de génétique chromosomique, Brest, France

d- CHRU Brest, Service de génétique, laboratoire de génétique chromosomique, Brest, France

Myelodysplastic Syndromes (MDS) are clonal malignancies of the bone marrow, which mainly occur in elderly patients. Those heterogeneous hemopathologies are characterized by an inefficient hematopoiesis, leading to one or more peripheral cytopenia(s), dysplastic bone marrow cells and a risk of evolution to Acute Myeloid Leukemia (AML), which often brings them to be qualified as “pre-leukemic” states. MDS blasts frequently present somatic mutations on certain genes or chromosomal abnormalities as deletions or inversions. The most recurrent mutations are found in genes encoding pre-mRNA-splicing factors (in 50 to 60% of cases), making the MDS sometimes considered as “splicing diseases”. On the other hand, the most recurrent chromosomal abnormality is the deletion of the long arm of chromosome 5 (del(5q)), being present in 15% of patients.

Interestingly, the blasts carrying the del(5q) present less somatic mutations than those of non-del(5q) MDS. However, we showed that in del(5q)-MDS patient cells, the pre-mRNA splicing process is altered, with more than 500 alternative splicing events compared to non-del(5q)-MDS patient cells. Thus, we hypothesize that the alteration of splicing observed in del(5q)-MDS patients would not be due to somatic mutations but rather to the deletion of genes located on the 5q chromosome.

To address this issue, we established several working objectives: (i) To determine which genes could be responsible of the altered splicing profiles in patients, (ii) To characterize the effect of the loss of two candidate genes (*RBM22* and *SLU7*) on pre-mRNA splicing and on the phenotype of MDS models, and (iii) To explore the impact of the double loss of *RBM22* and *SLU7* versus the single loss of *RBM22* on the phenotype of cells.

We found that *RBM22* and *SLU7* are respectively depleted in 100% and 30% of del(5q) patients. Our first results indicate that the sole loss of *RBM22* is able to induce alternative splicing events, to slow down the proliferation of cells and to induce a defect of erythrocyte differentiation, coinciding with the phenotype of del(5q) MDS. This reinforces our hypothesis that the loss of *RBM22* is implicated in the pathogenesis of the disease. Our work now aims at confirming the role played by *RBM22* on the cell cycle and studying the effect of its loss on the transcriptome by high-throughput sequencing approaches; determining the effect of the loss of *SLU7* on the phenotype of cells; and finally, exploring the effect of the double loss of *RBM22* and *SLU7* on the phenotype of cells.

## **Résumés « Flash/poster ou poster »**

# La sévérité des maladies auto-immunes est associée à des acteurs environnementaux agissant sur le niveau de méthylation de l'ADN

Hajar Bahane<sup>a</sup>, Christelle Le Dantec<sup>a</sup>, Nathan Foulquier<sup>a</sup>, Martha E. Alacron-Riquelme<sup>b</sup>, Pierre Youinou<sup>a</sup> and PRECISESADS Clinical Consortium, Jaques-Olivier Pers<sup>a</sup>

a- Univ. Brest, LBAI, INSERM 1227, 29200 Brest France, hajar.bahane@etudiant.univ-brest.fr

b- Department of Medical Genomics, Center for Genomics and Oncological Research (GENYO), 18016Granada, Spain.

*Immuno* **2021**, 1(4), 529-544; <https://doi.org/10.3390/immuno1040037>

Le projet européen PRECISESADS a regroupé 28 partenaires issus de 12 pays. Il a permis de mettre en place une nouvelle classification moléculaire des maladies auto-immunes (MAI) systémiques et d'identifier des signatures moléculaires spécifiques qui pourront permettre la mise en place de meilleures stratégies de médecine personnalisée.

Notre objectif a été ici de déterminer si l'environnement géographique des patients pouvait avoir un impact sur les taux de méthylation de l'ADN et la sévérité de la maladie (1,2,3). Quatre maladies autoimmunes ont été étudiées : le syndrome de Gougerot-Sjögren, le lupus érythémateux disséminé, la polyarthrite rhumatoïde et la sclérodermie. 523 et 554 patients issus respectivement du sud et du nord de l'Europe ont été comparés à 196 et 122 témoins au niveau du taux de méthylation de leur ADN. L'impact de la méthylation sur l'expression des gènes a été étudié par RNAseq.

La comparaison des 2 profils a montré que les patients du nord de l'Europe présentaient un taux de méthylation de leur ADN inférieur à ceux du sud. Cette hypométhylation est associée à une surexpression de gènes notamment impliqués dans la voie de l'interféron et à un profil inflammatoire aggravé.

Cette étude révèle un impact de l'environnement géographique sur les sévérités des MAI.

## Références.

- 1- Blank, M.; Shoenfeld, Y.; Perl, A. Cross-talk of the environment with the host genome and the immune system through endogenous retroviruses in systemic lupus erythematosus. *Lupus* **2009**, 18, 1136–1143
- 2- Shapira, Y.; Agmon-Levin, N.; Shoenfeld, Y. Defining and analyzing geoepidemiology and human autoimmunity. *J. Autoimmun.* **2010**, 34, J168–J177.
- 3- Shapira, Y.; Poratkatz, B.-S.; Gilburd, B.; Barzilai, O.; Ram, M.; Blank, M.; Lindeberg, S.; Frostegård, J.; Anaya, J.-M.; Bizzaro, N.; et al. Geographical differences in autoantibodies and anti-infectious agents antibodies among healthy adults. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **2012**, 42, 154–163.

## Caractérisation du microbiote associé aux lieux de stockage de fruits et légumes frais chez le consommateur

Damien Ballan<sup>a</sup>, Adeline Picot<sup>a</sup>, Louis Coroller<sup>a</sup>, Clément Bovo<sup>a</sup>, Audrey Pawtowski<sup>a</sup>, Stella Debaets<sup>a</sup>, Sylvie Tréguer<sup>a</sup>, Patrick Gabriel<sup>b</sup>, Morgane Innocent<sup>b</sup>, Charlotte Veron<sup>b</sup>, Annick Tamaro<sup>b</sup>, Bertrand Urien<sup>b</sup>, Marine Legall-Ely<sup>b</sup> Emmanuel Coton<sup>a</sup>, Jérôme Mounier<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Univ Brest, INRAE, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, F-29280 Plouzané, France - [damien.ballan@univ-brest.fr](mailto:damien.ballan@univ-brest.fr)

<sup>b</sup> Univ Brest, Laboratoire d'Économie et de Gestion de l'Ouest, F-29200, Brest, France

Le gaspillage des fruits et légumes frais (F&L) représente la part la plus importante des pertes alimentaires (35 à 50 % des pertes selon les continents) (*Gustavsson, 2011*). Par ailleurs, le consommateur final est à l'origine d'une part conséquente de ce gaspillage (10 kg/an/habitant en France), dont les altérations microbiennes constituent une des causes majoritaires. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude, qui s'inscrit dans le projet ANR FOODREST, est d'étudier le microbiote associé aux lieux de stockage des F&L chez les consommateurs et ses liens avec les pertes. Près de 400 écouvillonnages ont été effectués sur des compartiments de stockage domestiques (réfrigérateur, corbeille etc.) chez 50 foyers volontaires, sur deux périodes (été/automne) tandis que le gaspillage des F&L a été mesuré sur ces 2 périodes grâce à l'utilisation de poubelles connectées. Les prélèvements ont été mis en culture sur différents milieux pour dénombrer certains groupes microbiens associés aux altérations (*bactéries mésophiles ou psychrophiles, bactéries lactiques, sporulées, Pseudomonas, Entérobactéries, champignons*). Nos résultats montrent qu'une majorité de bactéries est retrouvée en compartiment réfrigéré (notamment *Pseudomonas* ( $1,21 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> en moyenne)- et entérobactéries ( $2,93 \times 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> en moyenne) contre une majorité d'organismes fongiques en compartiments à température ambiante ( $1,47 \times 10^5$  UFT/cm<sup>2</sup>). Le gaspillage varie de 0 à 129 g/personne/jour, avec une médiane de 28,8 g/personne/jour. En outre, des corrélations significatives entre certains paramètres ont été identifiées, notamment entre l'humidité relative en compartiment réfrigéré et les populations fongiques ( $r=0,4$ ), et entre les populations de bactéries psychrophiles et la quantité de F&L gaspillés ( $r=0,3$ ). Ces corrélations restent toutefois modérées, suggérant que d'autres facteurs contribuent à expliquer la survenue du gaspillage. L'intégration des données comportementales des foyers (étudiées par le Laboratoire d'Économie et Gestion de l'Ouest) permettra une meilleure compréhension des facteurs favorisant le gaspillage, tandis que l'étude des microorganismes responsables d'altérations sur denrées ainsi que des analyses métabarcoding ultérieures permettront une description plus fine du lien entre écosystèmes associés aux lieux de stockage et gaspillage des F&L frais.

### Références.

---

1- Gustavsson J (Ed.). 2011. Global food losses and food waste: extent, causes and prevention; study conducted for the International Congress Save Food! at Interpack 2011, [16 - 17 May], Düsseldorf, Germany. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

# Etude des éléments *cis*-régulateurs du locus *DFNB1* impliqué dans les surdités non-syndromiques

Aliénor Briset<sup>a</sup>, Anaïs Le Nabec<sup>b</sup>, Clara Blotas<sup>b</sup>, Claude Férec<sup>b,c</sup> et Stéphanie Moisan<sup>b,c</sup>

a- Univ. Brest, INSERM, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France, alienor.briset@etu.univ-lyon1.fr

b- Univ. Brest, INSERM, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France

c- Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHRU Brest, UMR 1078, F-29200 Brest, France

Lorsque la chromatine est décondensée, des structures appelées Topology Associated Domains (TAD) permettent d'augmenter les interactions entre régions chromatiniennes plus ou moins éloignées. Ces TADs sont des boucles formées par la fixation et l'interaction entre les protéines CTCF et cohésines. Les sites CTCF permettent la formation de petites boucles intra-TAD, permettant à des régions à distance appelées éléments *cis*-régulateurs (CREs) de réguler très finement l'expression des gènes. Ces régions, lorsque qu'elles présentent un défaut, peuvent être à l'origine de pathologies appelées enhanceropathies très diverses allant du cancer aux troubles neurologiques. La surdité liée au locus *DFNB1* est une surdité d'origine génétique dont le gène *GJB2*, codant pour la connexine 26, est responsable dans 30% des cas. Ce gène possède plusieurs CREs déjà identifiés. Cependant, deux délétions du locus *DFNB1* n'impactent pas l'intégrité du gène, mais entraînent une perte de plusieurs CREs identifiés comme enhancers, donc augmentant l'expression génique. L'objectif est donc d'identifier et de caractériser les CREs de *GJB2* afin de comprendre leur fonctionnement, mais aussi d'étudier l'impact de facteurs de transcription sur la fonction enhancer de C3, le principal CRE identifié. La technique CHIP a permis de mettre en avant la fixation du facteur de transcription MEIS1 sur cette région et donc son rôle dans la régulation de *GJB2*.

## Références.

---

1- S. Moisan, A. Le Nabec, A. Quillévéré, C. Le Maréchal, C. Férec. *Hum Genet*, **2019**, 138, 1275-1286

# Etude de l'expression de STIM1 à la membrane plasmique dans les maladies auto-immunes

Baptiste Chevet<sup>a,b</sup>, Marion Travert<sup>c</sup>, Sandrine Jousse-Joulin<sup>c</sup>, Claire de Moreuil<sup>d</sup>, Bénédicte Rouvière<sup>d</sup>, Jean-Baptiste Noury<sup>e</sup>, Steve Genestet<sup>e</sup>, Valérie Devauchelle-Pensec<sup>b</sup>, Jean-Baptiste Nousbaum<sup>f</sup>, Florence Tanné<sup>f</sup>, Laurent Misery<sup>g</sup>, Nadia Salinas<sup>g</sup>, Sylvie Boisramé<sup>h</sup>, Marie-Anne Couturier<sup>i</sup>, Nathalie Roudaut<sup>j</sup>, Philippe Thuillier<sup>j</sup>, Brigitte Pan-Peteschi<sup>i</sup>, Emilie Le Gall-Cornec<sup>k</sup>, Divi Cornec<sup>a,b</sup>, Mathieu Bléry<sup>c</sup>, Olivier Mignen<sup>a,c</sup>

a- LBAI, UMR1227, Univ Brest, Inserm, CHU de Brest, Brest, France.

b- Service de rhumatologie, CHU de Brest, Brest, France

c- Kalsiom SAS, Faculté de Médecine et de Sciences de la Santé, Brest, France

d- Service de médecine interne, vasculaire et pneumologie, hôpital de la Cavale Blanche, CHRU de Brest, Brest, France

e- Service de neurophysiologie clinique, CHU de Brest, Brest, France

f- Service d'hépatogastro-entérologie, CHU de Brest, Brest, France

g- Service de dermatologie, CHU de Brest, Brest, France

h- Service de chirurgie orale, CHU de Brest, Brest, France

i- Service d'hématologie, CHU de Brest, Brest, France

j- Service d'endocrinologie, CHU de Brest, Brest, France

k- Service de néphrologie, CHU de Brest, Brest, France

## Introduction

*Stromal Interaction Molecule 1* (STIM1) est une protéine localisée en conditions non pathologiques quasi exclusivement à la membrane du réticulum endoplasmique (RE). La stimulation physiologique du lymphocyte B (LB) permet une entrée calcique régulée par cette protéine STIM1. Dans le Lupus Érythémateux Systémique (LES) une expression de STIM1 à la membrane plasmique (STIM1<sub>PM</sub>) des LB en absence de stimulation, entraîne une dérégulation de l'influx entrant calcique ayant des conséquences sur leur activation et différenciation. Le traitement par anticorps monoclonal anti-STIM1 de modèles murins lupiques MRL-Lpr a permis une diminution de l'atteinte rénale, de l'atteinte cutanée et une plus grande survie des souris, comparé à la fois à un isotype et un anticorps anti-CD20.<sup>1</sup>

L'objectif de la présente étude est d'identifier les maladies auto-immunes, ou leurs sous-groupes phénotypiques présentant une surexpression de STIM1 à la membrane plasmique, afin de développer à terme de nouveaux traitements

## Méthodes

Dans la présente étude, nous avons inclus des patients majeurs diagnostiqués de 17 maladies auto-immunes dont la physiopathologie est basée sur le LB : LES, sclérodermie systémique (SSc), syndrome de Sjögren primaire (pSS), vascularites à ANCA, neuropathies dysimmunitaires (NDI), myasthénie, sclérose latérale amyotrophique (SLA)... Les patients ayant été traités par Rituximab au cours des 12 derniers mois étaient exclus.

L'expression de STIM1<sub>PM</sub> est mesurée sur sang total par cytométrie en flux. A l'aide de différents panels, l'expression de STIM<sub>PM</sub> est déterminée dans différentes populations lymphocytaires. Elle est considérée comme pathologique au-delà du 95<sup>ème</sup> percentile d'une population lymphocytaire chez 40 prélèvements-témoins issus de dons du sang. Des analyses statistiques descriptives ont été menées.

Cette étude est menée en lien avec la société KALSIOM, spécialisée dans le développement d'anticorps monoclonaux *first-in-class*.

## Résultats

Parmi les patients inclus, 19 étaient atteints de SSc, 25 avaient une NDI.

11% des patients avec SSc et 8% des NDI présentaient une surexpression de STIM1<sub>PM</sub> sur les LB. Les patients SSc avec les plus fortes MFI sur LB présentaient des maladies plus avancées, avec un score de classification plus important comparé aux patients SSc à MFI basse. Parmi les patients NDI exprimant le plus STIM1<sub>PM</sub>, tous étaient des hommes, avec un profil de NDI à anti-MAG, sans maladie de Waldenström associée.

Ces résultats seront à confirmer en cytométrie de flux grâce à une série d'anticorps anti-STIM1 plus affins en cours de développement, avant d'être étudiés en recherche translationnelle.

## Références.

---

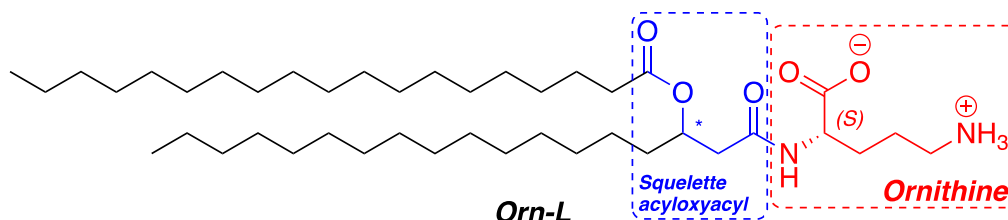
1. Le Goux N. et al., in press

# Synthèse de lipides aminoacyles bactériens bioinspirés

Benjamin Clepoint<sup>a</sup>, Mathieu Berchel<sup>a</sup>, Paul-Alain Jaffrès<sup>a</sup>

a- Univ. Brest, CEMCA - UMR 6521 CNRS, UBO, [benjamin.clepoint@etudiant.univ-brest.fr](mailto:benjamin.clepoint@etudiant.univ-brest.fr)

Les lipides les plus abondants dans les membranes plasmiques, les glycérophospholipides, sont caractérisés par une structure reposant sur un squelette glycérol lié à un groupement phosphate et une partie hydrophobe. Absent des domaines *Archea* et *Eucarya*, les lipides aminoacyles (AAL) possèdent quant à eux un squelette acyloxyacyle, lié à un acide aminé et à une queue hydrophobe.<sup>1</sup> Le AAL le plus relaté dans la littérature est un lipide zwitterionique dérivé de l'ornithine (Orn-L). Il est davantage présent chez les bactéries à Gram-négatif.<sup>2</sup> L'une des principales caractéristiques de cette classe de lipides est qu'ils ne disposent pas de groupement phosphoré. Normalement présent à une hauteur de 2 % de la fraction lipidique totale, c'est seulement lorsqu'elles sont soumises à un stress (diminution du pH, baisse de concentration en phosphore) que les bactéries synthétisent l'Orn-L selon deux voies métaboliques distinctes.<sup>3-7</sup> En cas de stress, cet AAL zwitterionique se montre déterminant dans des conditions où la concentration en phosphore se trouve limitée. Malgré la description des voies métaboliques de l'Orn-L et de ses dérivés dans la littérature, le défaut de documentation concernant son accès par voie chimique est notable. Le but est de mettre en œuvre une voie de synthèse permettant, en sept étapes et avec une grande pureté, l'obtention de l'Orn-L. Une approche convergente est envisagée. Caractérisée par une acylation de l'ornithine protégée et d'un dérivé énoil, l'ajout successif d'une seconde chaîne grasse via une estérification permet d'aboutir à l'Orn-L. Ces composés, préparés à l'échelle du gramme, permettront une étude structure activité afin d'investiguer leur comportement au sein des membranes.



## Références

- 1- O. Geiger, V. Röhrs, B. Weissenmayer, T. M. Finan, J. E. Thomas-Oates, *Molecular Microbiology*, **1999**, 32, 63
- 2- O. Geiger, N. González-Silva, I. M. López-Lara, C. Sohlenkamp, *Progress in Lipid Research*, **2010**, 49, 46
- 3- C. Sohlenkamp, *Biogenesis of Fatty Acids. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*, **2019**, 109
- 4- I. M. López-Lara, C. Sohlenkamp, O. Geiger, *Molecular Plant-Microbe Interactions*<sup>®</sup>, **2003**, 16, 567
- 5- J. M. Shively, C. Dees, *Journal of Bacteriology*, **1982**, 149, 789
- 6- O. Geiger, I. M. López-Lara, J.-L. Gao, B. Weissenmayer, *Molecular Microbiology*, **2002**, 45, 721
- 7- M. Á. Vences-Guzmán, Z. Guan, W. I. Escobedo-Hinojosa, J. R. Bermúdez-Barrientos, O. Geiger, C. Sohlenkamp, *Environ. Microbiol.*, **2015**, 17, 1487



# Evaluation de nouveaux anticorps monoclonaux ciblant STIM1 à la membrane plasmique pour le traitement de maladies auto-immunes rares

Maela Hus<sup>a</sup>, Nelig Le Goux<sup>b</sup>, Anthony Mainguy<sup>a</sup>, Marion Travert<sup>b</sup>, Julie Guellec<sup>b</sup>, Baptiste Chevet<sup>a,c</sup>, Sandrine Jousse-Joulin<sup>c</sup>, Divi Cornec<sup>c</sup>, Mathieu Bléry<sup>b</sup>, Olivier Mignen<sup>a,b</sup>

a- LBAI, UMR 1227 INSERM, Univ. Brest, France

b- Kalsiom SAS, Faculté de Médecine et de Sciences de la Santé, Brest, France

c- Service de rhumatologie, CHU de Brest, Brest, France

## Résumé

Stromal Interaction Molecule 1 (STIM1) est une protéine modulant les influx calciques dans les cellules. En condition physiologique, elle est localisée quasi exclusivement à la membrane du réticulum endoplasmique (STIM1<sub>RE</sub>) alors qu'en condition pathologique elle est également localisée à la membrane plasmique (STIM1<sub>PM</sub>) des cellules. STIM1<sub>RE</sub> régule l'influx Storage-Operated Calcium Entry (SOCE) en interagissant avec le canal calcique ORAI1 à la membrane plasmique suite à une déplétion des réserves en calcium du Réticulum Endoplasmique (RE). STIM1<sub>PM</sub> régule une autre entrée de calcium indépendante de la libération des réserves nommée l'Entrée Constitutive de Calcium (ECC). L'ECC est composée des canaux calciques ORAI1 et TRPC1 localisés à la membrane plasmique. Dans les maladies auto-immunes, la signalisation calcique de type SOCE au sein des lymphocytes B est dérégulée, ce qui participe à la perte de tolérance des cellules B et une production d'auto-anticorps. De précédentes études menées au sein du laboratoire montrent une augmentation du taux de STIM1<sub>PM</sub> dans les lymphocytes B de patients lupiques (papier en cours de soumission). Nous émettons l'hypothèse que STIM1<sub>PM</sub> et l'ECC pourraient être impliquées dans la perte de tolérance des cellules B. La start-up Kalsiom développe des anticorps monoclonaux pour le traitement de pathologies auto-immunes, telles que le lupus érythémateux systémique. Les effets de ces anticorps monoclonaux sont évalués sur la différenciation des lymphocytes B provenant de donneurs sains et de patients lupiques, mais aussi sur la sécrétion cytokinique, la sécrétion en IgG/IgM par les plasmablastes et l'expression de facteurs de transcription (PU.1, Blimp1, IRF8, PaX5, IRF4) associés à la différenciation B.

# Compréhension et comparaison de la bioactivité de nouveaux agents cytotoxiques dérivés du tirazacyclononane (TACN) : action libre du no3py et ciblage spécifique du 6'-SL-no3py

Jocelyn Le Goff,<sup>#§</sup> Fiona Le Pape,<sup>§</sup> Raphaël Tripier,<sup>†</sup> Véronique Patinec<sup>†</sup> et Christian Berthou<sup>§</sup>

<sup>†</sup> Univ. Brest, UMR-CNRS 6521 CEMCA, 6 avenue Victor le Gorgeu, 29238 Brest, France

<sup>§</sup> Univ. Brest, UMR-INSERM 1227 LBAI, 5 Avenue Foch, CHU Morvan, BP 824, 29609 Brest, France

La Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) est la leucémie la plus fréquente dans le monde occidental. Elle est caractérisée par l'accumulation anormale de lymphocytes B monoclonaux. Le CD22 constitue un biomarqueur surexprimé sur la membrane de ces cellules. Il peut être ciblé spécifiquement notamment par un acide sialique, le Sia $\alpha$ 2-6Gal $\beta$ 1-4GlcNAc, permettant son internalisation. Un nouvel agent cytotoxique dérivé du 1, 4, 7-triazacyclononane, le no3py, permet la chélation spécifique du Zinc. La diminution de la teneur en Zinc induit une mort apoptotique notamment par l'activation des caspases 3/7. Le mode d'action non spécifique du no3py ne permet pas d'envisager son utilisation sous sa forme libre, il est alors préférable de le conjuguer à une molécule spécifique du B comme le CD22. Le composé ainsi obtenu est appelé 6'-SL-no3py. Nous avons étudié en cytométrie en flux et en spectrofluorométrie, les propriétés cytotoxique et chélatrice du no3py libre et conjugué à l'acide sialique sur la lignée lymphocytaire B Daudi (CD22+). Dans un premier temps nous avons pu mettre en évidence une induction de la mort cellulaire en présence de ces deux composés. Nous avons ensuite souhaité mettre en évidence le rôle de l'activité chélatrice du no3py dans le phénomène observé. Pour cela, le milieu de culture a été supplémenté avec des solutions ioniques contenant des ions divalents zinc, cuivre ou fer. Après analyse de la mortalité cellulaire en cytométrie en flux (Annexine V / IP), nous observons une inhibition partielle avec le zinc puis le cuivre, sans effet de l'ajout de Fe (II). Pour terminer, il était important de montrer la capacité des chélateurs à capturer le zinc libre intracellulaire. L'ester éthylique de la Zinquin, capable de pénétrer les membranes cellulaires, fluoresce lors de sa fixation spécifique avec le Zn (II). L'analyse en spectrofluorométrie (FlexStation 3) a permis d'observer une diminution dose dépendante de la fluorescence de la Zinquin lorsque l'on augmente la concentration des chélateurs dans le milieu. Cette diminution de la fluorescence confirme que le no3py et le 6'-SL-no3py induisent l'apoptose des cellules en capturant préférentiellement le zinc intracellulaire libre.

Références.

---

(1) Eron, S. J.; MacPherson, D. J.; Dagbay, K. B.; Hardy, J. A. Multiple Mechanisms of Zinc-Mediated Inhibition for the Apoptotic Caspases -3, -6, -7, & -8. *ACS Chem Biol* 2018, 13 (5), 1279–1290. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.8b00064>.

(2) Galiana-Roselló, C.; Aceves-Luquero, C.; González, J.; Martínez-Camarena, Á.; Villalonga, R.; Fernández de Mat-tos, S.; Soriano, C.; Llinares, J.; García-España, E.; Vil-lalonga, P.; González-Rosende, M. E. Toward a Rational Design of Polyamine-Based Zinc-Chelating Agents for Can-cer Therapies. *J. Med. Chem.* 2020, 63 (3), 1199–1215. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01554>.

(3) O'Reilly, M. K.; Tian, H.; Paulson, J. C. CD22 Is a Recy-cling Receptor That Can Shuttle Cargo between the Cell Sur-face and Endosomal Compartments of B Cells. *J Immunol* 2011, 186 (3), 1554–1563. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1003005>.

(4) Scarfò L, Ferreri AJM, Ghia P. Chronic lymphocytic leukaemia. *Crit Rev Oncol Hematol.* août 2016;104:169-82.

# Conception d'amphiphiles modulateurs de protéines membranaires

Chloé Le Roux<sup>a</sup>, Hélène Couthon<sup>a</sup>, Paul-Alain Jaffrès<sup>a</sup>, Wilfried Berthe<sup>a</sup>

a- Univ. Brest, CEMCA, UMR UBO-CNRS 6521, chloe.leroux2@etudiant.univ-brest.fr

Les éthers-lipides constituent une classe de lipides naturellement présents, en faible quantité, dans de nombreuses cellules humaines. Des études ont montré qu'ils sont plus abondants dans certaines cellules cancéreuses (1). L'Ohmline (Figure 1) est un éther lipide synthétique capable de moduler sélectivement les canaux ioniques SK3 (2). Cette action pourrait se faire *via* une intégration dans les membranes plasmiques, rendue possible grâce à son ancre hydrophobe, conduisant à moduler localement leur fluidité. Selon ce mécanisme d'action supposé, l'Ohmline est en capacité de dissocier le complexe protéique SK3-Orai1 présent à la membrane plasmique de cellules cancéreuses conduisant *in vitro* à une réduction de la migration cellulaire SK3-dépendante et *in vivo* à l'absence de formation de métastases osseuses (3). Par ailleurs, des résultats récents obtenus en collaboration avec le laboratoire GFB (Unité INSERM 1078, Brest) montrent que l'Ohmline est également capable de moduler la ferroportine qui est la seule protéine exportatrice du fer chez l'Homme (4). Là encore, l'Ohmline pourrait agir sur la fluidité de nano-domaines des membranes plasmiques. Pour explorer ce mécanisme d'action original, l'objectif est de synthétiser des analogues de l'Ohmline en changeant l'ancre lipidique de manière à apporter encore plus de fluidité/désordre aux nano-domaines des membranes plasmiques. Ces nouveaux composés pourraient être des modulateurs de SK3 et/ou de la ferroportine.

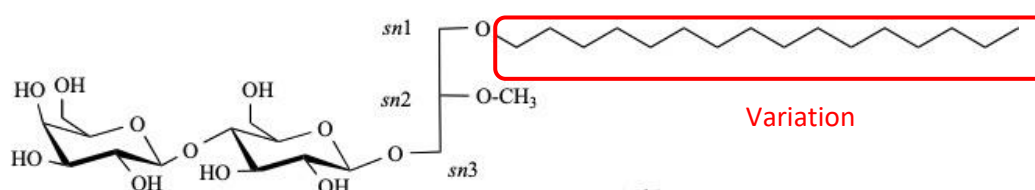


Figure 2 : 1-O-hexadecyl-2-O-methyl-rac-glycero-3-lactose (Ohmline)

## Références.

- 1- Fontaine, D.; Figiel, S.; Félix, R.; Kouba, S.; Fromont, G.; Mahéo, K.; Potier-Cartereau, M.; Chantôme, A.; Vandier, C. *J Lipid Res*, **2020**, *61*, 840–858.
- 2- Herrera, F. E.; Sevrain, C. M.; Jaffrès, P.-A.; Couthon, H.; Grélard, A.; Dufourc, E. J.; Chantôme, A.; Potier-Cartereau, M.; Vandier, C.; Bouchet, A. M. *ACS Omega*, **2017**, *2*, 6361–6370.
- 3- Chantôme, A.; Potier-Cartereau, M.; Clarysse, L.; Fromont, G.; Marionneau-Lambot, S.; Guéguinou, M.; Pagès, J.C.; Collin, C.; Oullier, T.; Girault, A.; Arbion, F.; Haelters, J.P.; Jaffrès, P.A.; Pinault, M.; Besson, P.; Joulin, V.; Bognoux, P.; Vandier, V., *Cancer Research*, **2013**, *73*, 4852-61.
- 4- Kong, Y.; Hu, L.; Lu, K.; Wang, Y.; Xie, Y.; Gao, L.; Yang, G.; Xie, B.; He, W.; Chen, G.; Wu, H.; Wu, X. Zhan, F.; Shi, J. *Cell Death Dis*, **2019**, *10*, 624.

# Rôle de la signalisation calcique dans la différenciation et l'orientation fonctionnelle du Lymphocyte B

Anthony Mainguy<sup>a</sup>, Olivier Mignen<sup>a</sup>, Nelig Le Goux<sup>b</sup>, Julie Guellec<sup>b</sup>, Marion Travert<sup>b</sup>

a- Univ. Brest, LBAI, UMR INSERM 1227, [Anthony.Mainguy@univ-brest.fr](mailto:Anthony.Mainguy@univ-brest.fr)

b- KALSIOM SAS, Brest.

Le lymphocyte B (LB) est un acteur cellulaire crucial dans la réponse immunitaire notamment lors de la phase adaptative à médiation humorale en tant que cellule sécrétrice d'anticorps, immunoglobulines solubles, au rôle amplificateur de cette réponse. En plus de ces capacités effectrices uniques, le LB est impliqué dans des mécanismes de contrôle et de surveillance immunitaire en sécrétant des médiateurs chimiques solubles comme des cytokines immunomodulatrices (IL-10) empêchant tout emballement de la réponse immunitaire. Cette orientation fonctionnelle du LB est régit par de nombreuses interactions et activations cellulaires lors de sa maturation et est médiée par différentes voies de signalisation, dont la signalisation calcique. De précédents travaux ont mis en évidence une dérégulation de STIM1 membranaire, un senseur calcique, sur des LB de patients atteints de Lupus suggérant une dérégulation des influx calciques qu'il régule dans cette pathologie. Ces résultats ont donné lieu à la création d'une jeune start-up en biotechnologie « KALSIOM » dont les travaux s'intéressent au potentiel d'une stratégie thérapeutique innovante ciblant STIM1 pour les maladies auto-immunes. Nous souhaitons à présent investiguer avec plus de profondeur le rôle des influx calciques dans la différenciation et le devenir du LB : comment les influx et la signalisation calcique interviennent dans les différentes étapes de différenciation du LB ainsi que dans la mise en place de ces fonctions effectrices et régulatrices ? Pour répondre à cette problématique, une première approche *in vitro* basée sur un modèle de différenciation du LB nous permettra d'étudier l'impact de la modulation pharmaco-chimique des influx calciques sur le profil de différenciation et l'activité de cette cellule. D'autre part, une approche *in silico* d'analyse de données omiques (RNAseq/scRNAseq) nous permettra de caractériser des signatures calciques du LB en condition physiologique (lors de l'ontologie du LB) et en contexte auto-immun (Syndrome Sjögren et Lupus Erythémateux Disséminé).

## Références.

---

- 1- STIM1 at the plasma membrane as a new target in progressive chronic lymphocytic leukemia. Debant M, Burgos M, Hemon P, Buscaglia P, Fali T, Melayah S, Le Goux N, Vandier C, Potier-Cartereau M, Pers JO, Tempescul A, Berthou C, Bagacean C, Mignen O, Renaudineau Y. *J Immunother Cancer*. 2019 Apr 23;7(1):111.
- 2- Constitutive calcium entry: updated views and insights. Mignen O, Constantin B., Potier-Cartereau M., Penna A., Gautier M., Guéguinou M., Renaudineau R., Shoji K., Félix R., Bayet E., Buscaglia P., Debant D., Chantôme A., Vandier C. *Eur Biophys J*. (2017), Jul;46(5):395-413.
- 3- A new molecular classification to drive precision treatment strategies in primary Sjögren's syndrome. Soret P, Le Dantec C, Desvaux E, Foulquier N, Chassagnol B, Hubert S, Jamin C, Barturen G, Desachy G, Devauchelle-Pensec V, Boudjeniba C, Cornec D, Saraux A, Jousse-Joulin S, Barbarroja N, Rodríguez-Pintó I, De Langhe E, Beretta L, Chizzolini C, Kovács L, Witte T; PRECISESADS Clinical Consortium; PRECISESADS Flow Cytometry Consortium, Bettacchioli E, Buttgerit A, Makowska Z, Lesche R, Borghi MO, Martin J, Courtade-Gaiani S, Xuereb L, Guedj M, Moingeon P, Alarcón-Riquelme ME, Laigle L, Pers JO. *Nat Commun*. 2021 Jun 10;12(1):352

# Etude de l'expression de TRPV1 dans un modèle de souris psoriasis-like

Emilie Marie-Joseph<sup>a</sup>, Matthieu Talagas<sup>b</sup>, Laurent Misery<sup>c</sup> et Nicolas Lebonvallet<sup>d</sup>

a- Université Claude Bernard Lyon 1, emilie.marie-joseph@etu.univ-lyon1.fr

b- LIEN, Université de Bretagne Occidentale, matthieu.talagas@chu-brest.fr

c- LIEN, Université de Bretagne Occidentale, laurent.misery@chu-brest.fr

d- LIEN, Université de Bretagne Occidentale, nicolas.lebonvallet@univ-brest.fr

## Résumé en français

Le récepteur à potentiel transitoire vanilloïde-1 (TRPV1) est un canal cationique connu pour être un senseur des fortes températures (>43°C) (1). Dans la peau, il est exprimé par les neurones sensoriels et de nombreux autres types cellulaires non-neuronaux (2). En plus de son rôle de senseur, TRPV1 est impliqué dans certains processus d'inflammation de la peau et notamment dans des pathologies inflammatoires chroniques (3,4). Son implication dans le psoriasis, pathologie cutanée inflammatoire, reste à mieux caractériser. Dans cette étude, nous cherchons à identifier les types cellulaires dans lesquels TRPV1 pourrait agir au cours du psoriasis. Pour cela, nous avons utilisé un modèle murin psoriasis-like induit par l'imiquimod sur du court-terme (4 jours) ou du long-terme (9 semaines). L'analyse immunohistochimique de ce modèle n'a montré aucune modulation de l'expression de TRPV1 dans les kératinocytes et les cellules endothéliales. L'analyse par RT-qPCR indique une diminution des transcrits TRPV1 dans les neurones sensoriels, exclusivement dans le modèle court-terme. Ces résultats suggèrent une variation de l'expression neuronale de TRPV1 au cours du psoriasis, qu'il faudrait confirmer au niveau protéique. Il serait intéressant de compléter cette étude par l'analyse de modèles humains et de définir le rôle de TRPV1 dans le psoriasis grâce à des techniques d'inhibition de ce récepteur.

## Références.

---

1. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*. oct 1997;389(6653):816-24.
2. Bodó E, Kovács I, Telek A, Varga A, Paus R, Kovács L, et al. Vanilloïd Receptor-1 (VR1) is Widely Expressed on Various Epithelial and Mesenchymal Cell Types of Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology*. août 2004;123(2):410-3.
3. Gouin O, L'Herondelle K, Lebonvallet N, Le Gall-Ianotto C, Sakka M, Buhé V, et al. TRPV1 and TRPA1 in cutaneous neurogenic and chronic inflammation: pro-inflammatory response induced by their activation and their sensitization. *Protein Cell*. sept 2017;8(9):644-61.
4. Nattkemper LA, Tey HL, Valdes-Rodriguez R, Lee H, Mollanazar NK, Albornoz C, et al. The Genetics of Chronic Itch: Gene Expression in the Skin of Patients with Atopic Dermatitis and Psoriasis with Severe Itch. *Journal of Investigative Dermatology*. juin 2018;138(6):1311-7.

# Importance de la glycosylation dans la physiopathologie du lymphocyte B

Marie Morel<sup>a</sup>, Anne Bordron<sup>a</sup>, Cristina Bagacean<sup>b,c</sup>, Maryvonne Duyemes<sup>a,b</sup>, Pierre Pochard<sup>b</sup>, Jacques-Olivier Pers<sup>a</sup>.

- a- INSERM UMR 1227 Lymphocytes B et Autoimmunité Université de Bretagne Occidentale marie.morel@etudiant.univ-brest.fr
- b- Laboratoire d'immunologie et d'immunothérapie, CHRU Brest, Hôpital Morvan, Brest, France
- c- Département d'hématologie, CHRU Brest Morvan, Brest, France.

INSERM, UMR 1227, CHRU Morvan, Lymphocytes B et Autoimmunité (LBAI), Université de Bretagne Occidentale, BP 824, 29609 Brest

Le laboratoire LBAI mène ses recherches sur le lymphocyte B et les maladies dans lequel il est impliqué (maladies autoimmunes (MAI) et leucémie lymphoïde chronique (CLL)) et se penche actuellement sur l'identification de marqueurs / signatures moléculaires permettant de prédire leurs évolutions et leurs réponses aux traitements.

La glycosylation est primordiale au bon développement cellulaire et joue un rôle important dans bon nombre de fonctions cellulaires physiologiques<sup>1</sup> mais aussi pathologiques comme le cancer<sup>2,3</sup> et les MAI<sup>4</sup>.

Au LBAI, l'étude de la glycosylation sérique des patients atteints de LLC a démontré une différence de composition en glycanes liés aux glycoprotéines du sérum selon le stade de ces patients. En outre, d'autres travaux obtenus également au LBAI ont aussi mis en avant un lien entre anomalies de sialylation (glycosylation particulière) dans le lymphocyte B et agressivité de la maladie dans les MAI<sup>4</sup>.

Aussi, l'objectif de ce travail est d'analyser la glycosylation des lymphocytes B des patients atteints de ces maladies grâce à une technique de cytométrie en flux couplée à des lectines spécifiques de différents sucres. Les résultats, comparés à ceux obtenus au niveau sérique, doivent permettre de mieux comprendre les rôles de ces sucres dans la physiopathologie du lymphocyte B.

Références.

---

1. Varki A. Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. *Glycobiology*. 1993;3(2):97-130. doi:10.1093/glycob/3.2.97
2. Varki A, Kannagi R, Toole B, Stanley P. Glycosylation Changes in Cancer. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD, et al., eds. *Essentials of Glycobiology*. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2015. Accessed November 1, 2020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK453023/>
3. Bordron A, Bagacean C, Mohr A, et al. Resistance to complement activation, cell membrane hypersialylation and relapses in chronic lymphocytic leukemia patients treated with rituximab and chemotherapy. *Oncotarget*. 2018;9(60):31590-31605. doi:10.18632/oncotarget.25657
4. Basset C, Durand V, Mimassi N, Pennec YL, Youinou P, Dueymes M. Enhanced sialyltransferase activity in B lymphocytes from patients with primary Sjögren's syndrome. *Scand J Immunol*. 2000;51(3):307-311. doi:10.1046/j.1365-3083.2000.00692.x

# Chélates du $^{89}\text{Zr}$ pour des méthodes de diagnostic innovantes

Alexandra Loubières, Maryline Beyler, Raphaël Tripier

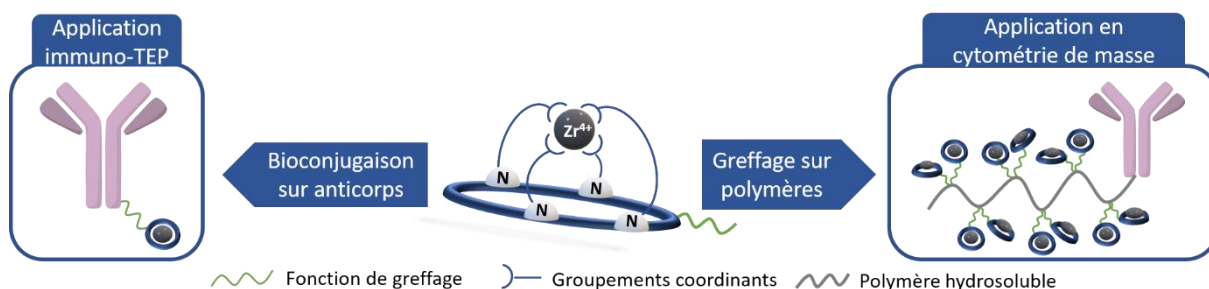
-Univ. Brest, UMR CNRS 6521, CEMCA, 6 avenue Victor Le Gorgeu 29238 Brest, France, [loubieres@univ-brest.fr](mailto:loubieres@univ-brest.fr)

Face à la complexité des maladies telles que le cancer, il est de plus en plus judicieux de combiner le diagnostic à l'échelle anatomique et l'analyse au niveau monocellulaire pour établir un diagnostic fiable et précoce et un proposer un traitement efficace et personnalisé.

Parmi les modalités d'imagerie, la TEP (Tomographie par Emission de Positons) est particulièrement sensible et couplée à la spécificité d'un anticorps, elle permet un diagnostic ciblé (immunoTEP). Les radioisotopes métalliques, comme le  $^{89}\text{Zr}$  ( $t_{1/2} = 78,4\text{h}$ ) font actuellement l'objet d'intenses recherches car leur grande variété permet d'élargir le champ des tumeurs décelables. Cependant, la déférixamine B (DFO) considérée comme le chélatant de choix pour complexer le  $^{89}\text{Zr}$  conduit à l'accumulation de  $^{89}\text{Zr}$  dans les os, responsable de métastases osseuses.<sup>[1]</sup>

Au niveau de l'analyse monocellulaire, la cytométrie de masse (CM) est particulièrement puissante. Elle découle directement de la cytométrie en flux, mais la détection des cellules marquées se fait par spectrométrie de masse. Les propriétés uniques de la CM permettent l'identification de populations cellulaires rares grâce à la détection d'anticorps marqués par des isotopes d'ions métalliques stables, plus précisément par des polymères fonctionnalisés par des chélates d'isotopes métalliques.<sup>[2]</sup> Pour répondre à la complexité cellulaire, l'accès à de nouveaux métaux, comme le Zr(IV) qui possède 4 isotopes exploitables, est indispensable. A ce jour, un seul polymère à base Zr(DFO) a été proposé mais il est limité par des problèmes de solubilité dans l'eau.<sup>[3]</sup>

L'objectif du projet est de développer des nouveaux chélateurs polyazamacrocycliques du  $\text{Zr}^{4+}$ , stables, solubles dans les milieux biologiques et possédant une fonction chimique réactive afin de pouvoir les utiliser à la fois pour la conception de radiopharmaceutiques au  $^{89}\text{Zr}$  pour l'immuno-TEP et pour la conception de nouveaux polymères chélateurs du  $\text{Zr}^{4+}$  pour la cytométrie de masse.



## Références.

[1] F. Guérard, Y.-S. Lee, M. W. Brechbiel, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 5584–5591.

[2] J. Wagner, M. A. Rapsomaniki, S. Chevrier, T. Anzeneder, C. Langwieder, A. Dykgers, M. Rees, A. Ramaswamy, S. Muenst, S. D. Soysal, A. Jacobs, J. Windhager, K. Silina, M. van den Broek, K. J. Dedes, M. Rodríguez Martínez, W. P. Weber, B. Bodenmiller, *Cell* **2019**, *177*, 1330-1345.e18.

[3] H. Cho, P. Liu, J. Pichaandi, T. L. L. Closson, D. Majonis, P. L. A. Leighton, E. Swanson, O. Ornatsky, V. Baranov, M. A. Winnik, *Eur. Polym. J.* **2019**, *120*, 109175.

# Dynamique des populations de *Fusarium* spp. et des communautés microbiennes au cours du cycle du blé

Toan Bao Hung Nguyen<sup>a</sup>, Gaétan Le Floch<sup>a</sup>, Marie Foulongne-Oriol<sup>b</sup>, Jérôme Mounier<sup>a</sup>, Monika Coton<sup>a</sup>, Flora Pensec<sup>a</sup>, A. Picot<sup>a</sup>

a- Univ Brest, INRAE, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, F-29280 Plouzané, France

b- UR1264 Mycologie et Sécurité des Aliments (MycSA), INRAE, Université de Bordeaux, 33882 Villenave d'Ornon, France.

La fusariose de l'épi est l'une des maladies fongiques les plus importantes des céréales, affectant à la fois les rendements et constituant une source de contamination des grains par des mycotoxines potentiellement dangereuses pour la santé humaine et animale. Des questions en lien avec l'épidémiologie de la maladie et les interactions biotiques entre *Fusarium* spp. (Fspp) et leur environnement restent inexplorées. Bien que le sol et les résidus du précédent cultural (en particulier, le maïs) constituent la source d'inoculum primaire, la contamination de ces compartiments est moins étudiée que celle des épis sur lesquels apparaissent les symptômes. La diversité génétique intraspécifique a également été peu explorée au sein des Fspp. [1,2]. Dans ce contexte, les objectifs de la thèse, intégrée au projet ANR POPNCO, visent à déterminer i) la diversité et dynamique des communautés bactériennes, fongiques et fusariennes au cours du cycle du blé dans les compartiments colonisés par Fspp ; ii) la variabilité intraspécifique, phénotypique et génétique, chez l'espèce prédominante *F. graminearum* (Fg) ; iii) la capacité d'isolats (bactéries ou champignons), issus du microbiome du champ à réduire la croissance de Fspp et/ou la production de mycotoxines. Pour répondre à ces objectifs, nous suivons pendant 2 ans, 6 parcelles de blé dans lesquelles les pratiques agricoles favorisent le développement de la fusariose. Des échantillons de sol, de grains de blé et de résidus de maïs ont été collectés à différentes étapes-clés de la culture du blé pendant un premier cycle cultural tandis qu'une deuxième année de suivi est actuellement en cours. La diversité et la dynamique des communautés bactériennes, fongiques et fusariennes des échantillons issus de la première année de prélèvements sont actuellement étudiées par métabarcoding [1]. Ces échantillons ont permis d'obtenir une collection de 425 isolats monospores de Fg. Cette collection sera génotypée à l'aide de marqueurs microsatellites (méthodologie SSRseq [3]), en partenariat avec l'INRAE UR MycSA, et caractérisée en fonction de leur chémotype et potentiel toxigène. Enfin, une collection de 700 isolats bactériens et fongiques issus des prélèvements est également en cours de construction pour évaluer sa capacité antagoniste envers des Fspp.

## Références.

---

- 1- **Cobo-Díaz JF, Baroncelli R, Le Floch G, Picot A. 2019.** Combined Metabarcoding and Co-occurrence Network Analysis to Profile the Bacterial, Fungal and Fusarium Communities and Their Interactions in Maize Stalks. *Frontiers in Microbiology* **10**: 261.
- 2- **Legrand F, Picot A, Cobo-Díaz JF, Chen W, Le Floch G. 2017.** Challenges facing the biological control strategies for the management of Fusarium Head Blight of cereals caused by *F. graminearum*. *Biological Control* **113**: 26–38.
- 3- **Lepais O, Chancerel E, Boury C, Salin F, Manicki A, Taillebois L, Dutech C, Aissi A, Bacles CFE, Daverat F, Launey S, Guichoux E. 2020.** Fast sequence-based microsatellite genotyping development workflow. *PeerJ* **8**: e9085.



# Complexes du fer des dérivés du TACN pour l'imagerie par résonance magnétique

Adrien Uguen, Véronique Patinec, Raphaël Tripier

Univ. Brest, CEMCA « Chimie Electrochimie Moléculaires et Chimie Analytique », UMR CNRS 6521, 6 avenue Victor Le Gorgeu BP809 29285 Brest Cedex 3, [www.umr6521.cnrs.fr](http://www.umr6521.cnrs.fr)

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une technique diagnostique non-ionisante et non invasive, permettant une visualisation haute résolution des tissus mous et des structures vasculaires en tirant parti de l'eau, très abondante dans les tissus biologiques. Plus de 70 millions d'examen sont réalisés chaque année à travers le monde.

Aujourd'hui, près de 40 % des procédures d'IRM cliniques utilisent des agents de contraste paramagnétiques pour augmenter la résolution et la sensibilité du signal. Les plus couramment utilisés sont constitués du cation métallique  $Gd^{3+}$  associé à un chélateur pour réduire son exposition à l'organisme et sa haute cytotoxicité.<sup>1</sup> Cependant, les risques liés au  $Gd^{3+}$  de fibroses néphrogéniques systémiques<sup>2</sup> ainsi que de contamination des eaux usées restent importants et motivent les recherches pour de nouvelles alternatives basées sur d'autres cations paramagnétiques. Des études prometteuses de complexes de  $Fe^{3+}$  à Haut Spin se sont ainsi multipliées ces dernières années.

Notre groupe est spécialisé dans l'étude des applications des polyamines cycliques, telles que le **tacn** (1,4,7-triazacyclononane), connues pour leur capacité à complexer les cations des métaux de transition. Le **tacn** est un macrocycle approprié pour complexer l'ion  $Fe^{3+}$  et le stabiliser dans son état d'oxydation grâce à sa préorganisation adaptée au cation métallique.<sup>3</sup> Lors de cette présentation, nous discuterons de la synthèse et des propriétés des complexes **Fe(no1py1ac)**, **Fe(no1pa1ac)** et **Fe(no1py1pa)** (**Figure 1**), ce qui permettra d'évaluer leur utilisation comme potentiels agents de contraste alternatifs.

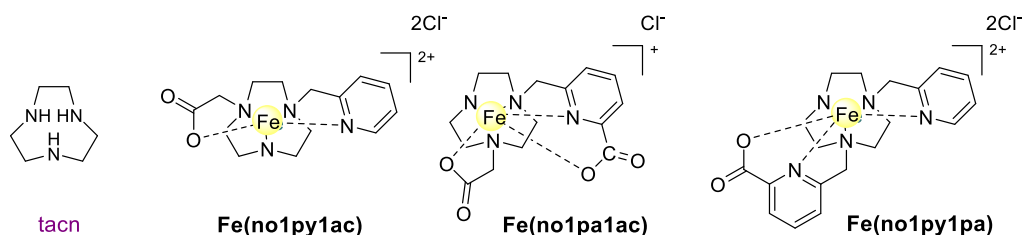


Figure 3 Représentation du tacn et de trois complexes du fer des dérivés du tacn

## Références.

- 1- P. Hermann, J. Kotek, V. Kubíček, I. Lukeš, *Dalton Trans.* **2008**, 3027.
- 2- M. Rogosnitzky, S. Branch, *Biometals* **2016**, 29, 365.
- 3- D. Asik, R. Smolinski, S. M. Abozeid, T. B. Mitchell, S. G. Turowski, J. A. Sperryak, J. R. Morrow, *Molecules* **2020**, 25, 2291.