



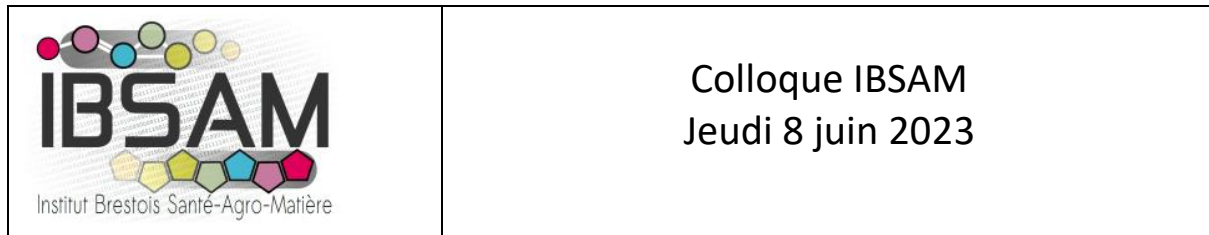
Colloque IBSAM

Jeudi 8 juin 2023

8h00-17h30

Amphi IV

Faculté de Médecine



Matin

- 8h00-8h30 Accueil – mise en place des posters
- 8h30-8h45 Mots par le Pr. Tristan Montier, VP recherche, et les représentants de l'IBSAM
- 8h45-9h15 **Communications orales session 1**
Garaud Soizic, LBAI, *Quelle est la physiopathologie des effets indésirables induits par les inhibiteurs de point de contrôle immunitaire chez les patients atteints de cancer ?*
Gentile Lucile, GGB, *Les molécules anti-prions ont-elles un potentiel thérapeutique dans le cadre de la maladie de Parkinson ?*
Le Roux Chloé, CEMCA, *Conception de composés lipidiques pour le transport d'acides nucléiques*
- 9h15-9h35 **Projet financé par l'IBSAM**
Graziano Nicolas, LUBEM
Étude de la cytotoxicité de métabolites secondaires natifs et après halogénéation, issus de champignons marins
- 9h35-10h00 **Session Flash 1** : Présentations Flash 2 min + poster.
Bonnardot Margot, GGB, *Targeted antimicrobial photodynamic therapy: Controlled delivery of light for spatial eradication of antimicrobial resistant pathogens*
Hoyau Valentine, GGB, *Éléments cis-régulateurs du locus DFNB1*
Bicrel Lena, LBAI, *Impact des modifications post-traductionnelles de la protéine STIM1 sur son insertion, sa topologie et sa multimérisation à la membrane plasmique.*
Autret Axelle, GGB, *Régulation à distance du gène HAMP*
Scaviner Mathieu, CEMCA, *Préparation de synthons éther-lipides, précurseurs de molécules amphiphiles.*
Molina Mendoza Abraham, GGB, *Rôle de la mutation IDH2^{R140Q} dans la différenciation érythro-mégacaryocytaire dans les Néoplasies Myéloprolifératives*
Kondor Lucie, LBAI, *Étude de la physiopathologie des effets secondaires induits par immunothérapies anti-cancéreuses via imagerie de masse*
Deydier Numas, LIEN, *Neuroprotection de l'épiderme en cas de stress inflammatoire*
- 10h00-11h00 **Session poster et café**
- 11h00-12h00 **Rodolphe Clérac** – CRPP UMR 5031 - Bordeaux
New metal - organic magnets
- 12h00-13h30 **Pause déjeuner- libre/Amuse-bouche sur place**

Après-midi

13h30-14h00

Communications orales session 2

Le Scanf Enora, GGB, *Analyses des anomalies d'épissage des ARN dans les cancers digestifs avec des instabilités des microsatellites*

Le Sénéchal Ronan, GGB, *L'épissage alternatif de BCL-x est contrôlé par la liaison de RBM25 à un G-quadruplex du pré-ARNm de BCL-x*

Maoudj Ilias, LaTIM, *Un système d'acquisition de données multimodales lors de chirurgies éveillées du cerveau : vers l'émergence d'une base de données clinique dédiée*

14h00-15h00

Didier Auboeuf - Laboratoire de biologie et modélisation de la cellule (LBMC)
Ecole Normale Supérieure de Lyon

RNA metabolism, genome organisation, cancer, evolution

15h-15h30

Session Flash 2 : Présentations Flash 2 min + poster.

Labous Léna, CEMCA, *Analyse structurale de peptides cycliques bioactifs par spectrométrie de masse tandem (ESI-MS/MS)*

Kerleroux-Trebaol Pauline, LBAI, *Le rôle de la glycosylation dans l'acquisition de la fonction B régulatrice*

Gouez Clara, GGB, *Recherche de nouveaux candidats médicaments anticancéreux : Effets comparés sur des cellules cancéreuses gastriques en 2D vs. 3D*

Réant Charlotte, LUBEM, *Diversité fongique d'aliments moisiss chez les consommateurs et caractérisation de la migration de mycotoxines sur légumes : une première étape pour concilier sécurité microbiologique des aliments et lutte contre le gaspillage alimentaire*

Delmas Emie, LBAI, *Étude des facteurs et des mécanismes moléculaires impliqués dans la génération et la fonction des lymphocytes B régulateurs*

Guivarch Mael, GGB, *Méthodes spatiales pour l'analyse de données génétiques*

Distefano Alessia, CEMCA, *Exploring the Amyloid- β Oxygen adduct in Alzheimer's Disease: A Mass Spectrometry Study.*

Gueye Oulimata, LaTIM, *Estimation d'informations musculo-squelettiques sur la base des caractéristiques externes de la peau*

15h30-16h30

[Session poster et café](#)

16h30-17h00

Communications orales session 3

Marie-Joseph Emilie, LIEN, *Etude de TRPV1 dans le psoriasis*

Sire Charline, CEMCA, *Synthèse de chélateurs polyazotés porteurs de groupements fluorés pour des applications théranostiques*

17h00-17h30

Annnonce prix communication, prix flash et prix poster,

Résultat AAP IBSAM 2023

Clôture

New Metal-Organic Magnets

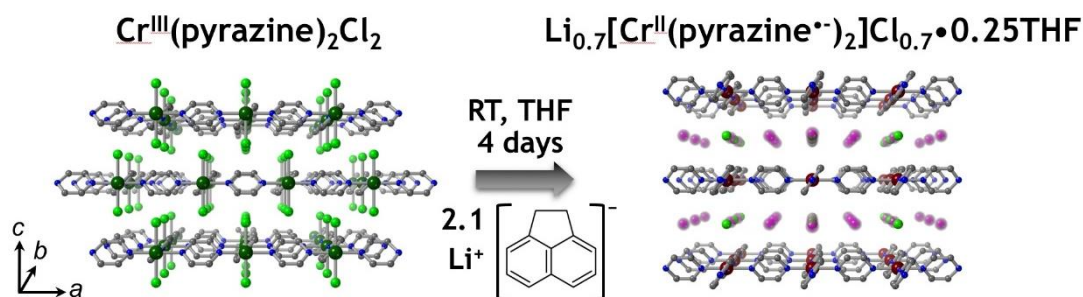
Rodolphe Clérac,^{1*} Panagiota Perlepe,¹ Itziar Oyarzabal,^{1,2} Xiaozhou Ma,¹ Pierre Dechambenoit,¹ Corine Mathonière,¹ Kasper Pedersen,^{1,3} M. Rouzières,¹ Andrei Rogalev⁴ and
All authors in the references [1-6].

¹ Univ. Bordeaux, CNRS, Centre de Recherche Paul Pascal, UMR 5031, F-33600, Pessac, France. ² Chemistry Faculty, University of the Basque Country, UPV/EHU, Donostia-San Sebastián, Spain. ³ Department of Chemistry, Technical University of Denmark, DK-2800 Kgs. Lyngby, Denmark. ⁴ ESRF-The European Synchrotron, CS 40220, F-38043 Grenoble Cedex 9, France.

* email: rodolphe.clerac@u-bordeaux.fr

Magnets derived from inorganic materials (e.g., oxides, rare earth and intermetallic compounds) are key components of modern technological applications. Despite extensive success in a broad range of applications, these inorganic magnets suffer several drawbacks, such as energetically expensive fabrication, limited availability of certain constituent elements, high density, and poor scope for chemical tunability. A promising design strategy for next-generation magnets relies on the versatile coordination chemistry of abundant metal ions and inexpensive organic ligands [1-7].

Ordered magnets are the result of cooperative effects between magnetic spins. The choice of the linker between the spin carriers is therefore a crucial element to control, as it mediates the communication and interactions between them. The use of a redox-active bridging ligand as a linker is a particularly attractive strategy. By oxidation(s) or reduction(s), it can act as a control switch of the magnetic interactions. While in its diamagnetic state, it mediates usually weak magnetic interactions, in its radical form, it can promote a better spin delocalization inducing large magnetic interactions and in the same time, a good electronic conductivity which could lead to new high T_C conductive magnets. In this presentation, the rational design of new magnetic systems based on redox-active ligands will be discussed and illustrated by (i) paramagnetic dinuclear M(II) complexes, $[M_2(\text{tphz})(\text{tpy})_2](\text{PF}_6)_4$ ($M = \text{Co}$ or Ni ; tpy = terpyridine; tphz = tetrapyridophenazine) [1-3], (ii) a two-dimensional coordination network, $\text{Cr}(\text{pyrazine})_2\text{Cl}_2$, which is a ferrimagnet and a semiconductor (left part of the figure below) [4,5] and (iii) lightweight molecule-based magnets (right part of the figure below), which feature critical temperatures up to 515 K, and unprecedented 7500-Oersted room-temperature coercivity [6].



Acknowledgments: This work was mainly supported by the University of Bordeaux, the Région Nouvelle Aquitaine, the ANR, the CNRS and the ESRF (see articles below for complete acknowledgements).

References:

- [1] X. Ma, *et al.*, **Angew. Chem. Int. Ed.** 57, 7841-7845 (2018)
- [2] X. Ma, *et al.*, **J. Am. Chem. Soc.** 141, 7721-7725 (2019)
- [3] X. Ma, *et al.*, **Chem. Commun.** 56, 4906-4909 (2020)
- [4] K. S. Pedersen, *et al.*, **Nature Chemistry** 10, 1056-1061 (2018).
- [5] P. Perlepe, *et al.*, **Polyhedron** 153, 248-253 (2018).
- [6] P. Perlepe, *et al.*, **Science** Vol. 370, 6516, 587-592 (2020).
- [7] P. Perlepe, *et al.*, **Nature Communications** 13, 5766 (2022).

Compositional biases of genes and their products establish a link between the genome- and the cell-spatial self-organization

Didier Auboeuf

In recent years, significant progress has been made in understanding the role of the genome spatial organization in gene expression regulation (Bouwman, Crosetto, et Bienko 2022). The genome spatial organization can be defined by the fact that genes are not randomly distributed in the nucleus, but are instead organized within more or less dynamical spatial communities or clusters.

To better understand the biological causes and consequences of the genome spatial organization, we first collected different kind of datasets that allow to define the spatial localization of human genes in the nucleus. For example, we used several human HiC datasets that allow to define groups of genes that are in spatial proximity, datasets that allow to define the nuclear radial position of human genes (Girelli et al. 2020), and datasets that allow to define the localization of genes in regards to nuclear sub-compartments such as lamina, speckles and nucleolus (Wang et al. 2021). Using these datasets and by analyzing gene nucleotide composition, we show that genes that are in close spatial proximity to each other share the same nucleotide composition bias. The composition biases – and thus the physicochemical properties shared between genomic regions – could explain at least in part how they self-assemble within spatial communities. We also show that co-localized genes sharing the same compositional biases have a higher probability of being co-regulated by the same set of transcription factors. We then show that co-localized genes that have the same compositional biases produce RNAs that share the same compositional biases and that are co-regulated by the same set of RNA-binding proteins such as splicing factors. Then, we show that RNAs produced from the same gene spatial clusters and sharing the same compositional biases produce proteins that themselves share the same amino acid compositional biases. Consequently, proteins whose genes co-localize have the same physicochemical properties. Since the cellular localization of proteins depends on their physicochemical properties, we next show that proteins whose genes co-localize in the nucleus have a higher probability of being part of the same cellular sub-compartments.

Through the analysis of the compositional biases of nucleic acids and proteins – as a proxy of their physicochemical properties – our work uncovers a link between the spatial organization of genes in the nucleus and the spatial organization of their products (i.e., proteins) in the cell. In addition, our work supports a model according to which gene- function and-regulation are the two sides of the same coin. Indeed, genes are co-regulated in a manner depending on their compositional biases and because they share nucleotide composition biases, co-localized and co-regulated genes produce protein that share the same amino composition biases and that have therefore similar biological functions. In a symmetrical manner, proteins that have similar biological functions share the same amino acid composition biases and therefore come from genes that share the same nucleotide composition biases and that co-localize in the nucleus and are co-regulated by the same factors.

Bouwman, Britta A. M., Nicola Crosetto, et Magda Bienko. 2022. « The Era of 3D and Spatial Genomics ». *Trends in Genetics: TIG* 38 (10): 1062 75.

Girelli, Gabriele, Joaquin Custodio, Tomasz Kallas, Federico Agostini, Erik Wernersson, Bastiaan Spanjaard, Ana Mota, et al. 2020. « GPSeq Reveals the Radial Organization of Chromatin in the Cell Nucleus ». *Nature Biotechnology* 38 (10): 1184 93.

Wang, Yuchuan, Yang Zhang, Ruochi Zhang, Tom van Schaik, Liguozhang, Takayo Sasaki, Daniel Peric-Hupkes, et al. 2021. « SPIN Reveals Genome-Wide Landscape of Nuclear Compartmentalization ». *Genome Biology* 22 (1): 36.

Conférence projet financé par l'IBSAM

Étude de la cytotoxicité de métabolites secondaires natifs et après halogénéation, issus de champignons marins

Nicolas Graziano^a, Laurence Meslet-Cladiere^a, Nolwenn Hymery^a, Catherine Le Jossic-Corcos^b

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

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

Naganishia uzbekistanensis (UBOCC-A-208024) est une levure marine isolée d'une source hydrothermale et possédant une polyketide synthase de type III. Cette dernière produit des triketides/tetraketides pyrones et des alkylrésorcinols. Une étude préliminaire a permis de mettre en évidence, pour deux molécules pures (pyrones), une activité cytotoxique sur des cellules cancéreuses THP-1 (Human Leukemia cells). Les dérivés halogénés étant largement utilisés notamment pour leurs propriétés thérapeutiques, l'halogénéation de ces molécules paraît être intéressante à étudier notamment pour une efficacité anticancéreuse supérieure. L'halogénéation sera réalisée à l'aide d'une vanadium-haloperoxydase recombinante, isolée d'une levure marine et surexprimée chez *E. coli*.

L'objectif de cette étude est, dans un premier temps, d'évaluer le potentiel cytotoxique de différentes molécules (pyrones et résorcinols) sur des lignées cancéreuses du système digestif : cellules hépatiques (HepaRG), cellules intestinales (Caco-2) et cellules gastriques (HGT-1 et AGS). Dans un deuxième temps, le potentiel de ces molécules après halogénéation sera évalué sur les mêmes lignées afin d'estimer les avantages d'une biohalogénéation.

Références.

1- L. Martinelli, V. Redou, B. Cochereau, L. Delage, N. Hymery, E. Poirier, C. Le Meur, G. Le Floch, L. Cladiere, M. Mehiri, N. Demont-Caulet, L. Meslet-Cladiere. Identification and characterization of a new type III Polyketide Synthase from a marine yeast, *Naganishia uzbekistanensis*. *Marine Drugs*, **2020**, **18**, 637

Résumés « Communication orale »

Quelle est la physiopathologie des effets indésirables induits par les inhibiteurs de point de contrôle immunitaire chez les patients atteints de cancer ?

Soizic Garaud^a, Anaïs Boisson^b, Alice Tison^c, Marthe Verhaert^d, Lucie Kondor^e, Patrice Hémon^f, Sandrine Aspeslagh^g, Arnaud Uguen^h, Divi Cornecⁱ, Karen Willard-Gallo^j, Jacques-Olivier Pers^k.

^aLBAI, UMR1227, Univ Brest, INSERM, Brest, France ;

^bMolecular Immunology Unit, Institut Jules Bordet, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium ;

^cLBAI, UMR1227, Univ Brest, INSERM, CHU de Brest, Brest, France ;

^dDepartment of Medical Oncology, Vrije Universiteit Brussel, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgium.

^eLBAI, UMR1227, Univ Brest, INSERM, Brest, France ;

^fLBAI, UMR1227, Univ Brest, INSERM, Brest, France ;

^gDepartment of Medical Oncology, Vrije Universiteit Brussel, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgium.

^hLBAI, UMR1227, Univ Brest, INSERM, CHU de Brest, Brest, France ;

ⁱLBAI, UMR1227, Univ Brest, INSERM, CHU de Brest, Brest, France ;

^jMolecular Immunology Unit, Institut Jules Bordet, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium ;

^kLBAI, UMR1227, Univ Brest, INSERM, CHU de Brest, Brest, France ;

Résumé

Les récents succès des inhibiteurs de point de contrôle immunitaire (ICI) ont radicalement changé le paysage thérapeutique en cancérologie. Cependant, les ICI sont souvent responsables d'effets secondaires immuno-médiés (irAE), qui peuvent affecter tous les organes, avec un large éventail de manifestations cliniques, allant de formes légères à mortelles. Bien que plusieurs hypothèses existent quant à la physiopathologie de ces irAE, les acteurs immunitaires impliqués sont inconnus. L'objectif de ce projet est de caractériser la réponse immunitaire circulante et tissulaire au moment de la toxicité. Premièrement, 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 l'irAE et comparé à l'état avant traitement, à partir de la bio-collection de l'étude prospective ICIT (n=43). L'immunophénotypage a révélé une diminution des lymphocytes T CD8+ naïfs et mémoires centraux, associée à une augmentation des lymphocytes T CD4+ EMRA, des B mémoires atypiques et des cellules sécrétrices d'anticorps à l'apparition de l'irAE. De plus, 29 % de ces patients ont présenté au moins un auto-anticorps avant le traitement, comme TIF1y, SAE2, NXP-2 et SRP. Deuxièmement, une analyse tissulaire a été réalisée rétrospectivement à partir de biopsies d'organes affectés par des irAE. Une caractérisation par imagerie de masse a révélé la présence de macrophages, de lymphocytes T auxiliaires et cytotoxiques, mais également de lymphocytes B, majoritairement doubles négatifs (IgD⁻CD27⁻) et naïfs (IgD⁺CD27⁻) dans des irAE cutanées de type lichen plan. L'étude des mécanismes immunitaires à l'origine des irAE, via des approches de pointes telles que l'imagerie de masse, permettra une meilleure compréhension de la physiopathologie des irAE, l'identification de biomarqueurs prédictifs de toxicité, et apportera des pistes pour en améliorer la prise en charge.

Les molécules anti-prions ont-elles un potentiel thérapeutique dans le cadre de la maladie de Parkinson ?

Lucile Gentile¹, Adeel Nasir¹, Maha Sinane¹, Pierre Conan¹, Anna-Katharina Ückert², Marcel Leist², Gaëlle Friocourt¹, Capucine Trollet³, Frédéric Bihel⁴, Cécile Voisset¹

¹Inserm, Université Brest, EFS, UMR 1078, GGB, 29200 Brest, France;

²Universität Konstanz Department of Biology · Fach 657 D-78457 Konstanz;

³Sorbonne Université, Inserm, Institut de Myologie, Centre de Recherche en Myologie, 75013 Paris, France;

⁴Laboratoire d'Innovation Thérapeutique, LIT, UMR7200, IMS MEDALIS, Faculty of Pharmacy, CNRS, Université de Strasbourg, Illkirch 67400, France.

La maladie de Parkinson est, comme les maladies à prions, une maladie du repliement des protéines. La caractéristique majeure de la maladie de Parkinson est le changement de conformation de l' α -Synucléine qui entraîne son agrégation sous forme de corps de Lewy. L'agrégation de l' α -Synucléine induit un stress du réticulum endoplasmique (RE) qui mène à la mort des neurones dopaminergiques par apoptose. L'identification de molécules capables de réduire l'agrégation de l' α -Synucléine et le stress du RE est donc une piste prometteuse pour le traitement de la maladie de Parkinson. Le guanabenz, un médicament anti-hypertenseur qui possède aussi une activité anti-prion [1], est capable de réduire le stress du RE [2]. L'un des objectifs de ma thèse est de déterminer si la nouvelle molécule anti-prion AP1 que nous avons identifiée par une approche de repositionnement thérapeutique, possède la capacité de réduire le stress du RE et de protéger les neurones de la mort par apoptose induite par ce stress. Deux modèles cellulaires pertinents pour la maladie de Parkinson ont été utilisés afin de déterminer l'effet cytoprotecteur de la molécule médicament AP1 après induction du stress du stress du RE par un agent neurotoxique : les cellules PC12 différenciées en neurones [3] et les cellules LUHMES différenciées en neurones dopaminergiques [4, 5]. Nos données indiquent que la molécule médicament AP1 réduit le stress du RE de manière dose-dépendante et qu'elle a un effet cytoprotecteur pour les neurones. Ainsi, nos données montrent que des molécules anti-prions pourraient avoir un potentiel thérapeutique dans le cadre de la maladie de Parkinson.

Références.

[1] Tribouillard-Tanvier et al., 2008. *PLoS ONE* 3 (4): e1981.

[2] Das et al., 2015. *Science* 348 (6231): 239-42.

[3] Malagelada et Greene. 2008. In *Parkinson's Disease*, 375-87.

[4] Lotharius et al., 2002. *Journal of Biological Chemistry* 277 (41): 38884-94.

[5] Lotharius et al., 2005. *Journal of Neuroscience* 25 (27): 6329-42.

Conception de composés lipidiques pour le transport d'acides nucléiques

Chloé Le Roux,^a Paul-Alain Jaffrès^a, Mathieu Berchel^a, Véronique Vié^b, Gilles Paboeuf^b

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

b- Univ. Rennes, IPR, UMR UR1-CNRS 6251, ScanMAT - UMS 2001

La transfection est l'introduction de matériel génétique, ADN ou ARN messager, dans les cellules eucaryotes, dans le but de produire une protéine fonctionnelle d'intérêt thérapeutique. Ces polymères poly-anioniques ne peuvent diffuser passivement à travers la membrane plasmique du fait des répulsions électrostatiques et risquent d'être rapidement détruits par les nucléases présentes dans la circulation sanguine^[1]. La membrane plasmique étant principalement composée de lipides, leur encapsulation dans des vésicules lipidiques est un bon moyen de la franchir et de permettre leur relargage dans le cytosol de la cellule cible. Ainsi, ces vésicules composées d'amphiphiles cationiques ou protonables pour l'interaction avec les groupements phosphates rendent possible l'internalisation dans la cellule par endocytose^[2]. La structure de ces amphiphiles et notamment le ratio volumique entre la tête polaire et la queue apolaire influence leur géométrie qui est un paramètre important pour l'étape de relargage dans le cytosol. En effet, selon l'assemblage supramoléculaire adopté, la fusion avec la membrane endosomale menant à la libération du matériel génétique sera plus ou moins facilitée^[3]. L'étude des paramètres influençant la géométrie des amphiphiles et le type d'assemblage supramoléculaire qui en découle est donc nécessaire pour optimiser cette étape clé de la transfection. Ainsi, l'étude des comportements à l'interface air/liquide par la méthode des isothermes de compression de Langmuir^[4] réalisée sur des séries homogènes de phospholipides sera présentée. Cette expérience informe du volume occupé par les entités dans une monocouche et de la pression à appliquer pour la détruire. Cela donne une idée de leur organisation dans le film lipidique et de leur fluidité, indices de leurs capacités de fusion.

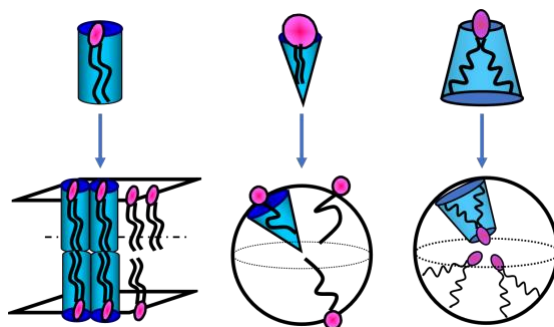


Figure 1 : types d'assemblages supramoléculaires selon la géométrie des amphiphiles

Références.

- [1] U. Sahin, K. Karikó, Ö. Türeci, *Nat Rev Drug Discov.* **2014**, *13*, 759–780.
- [2] I. Gómez-Aguado, J. Rodríguez-Castejón, M. Vicente-Pascual, A. Rodríguez-Gascón, M. Á. Solinís, A. del Pozo-Rodríguez, *Nanomaterials (Basel).* **2020**, *10*, 364.
- [3] Y. Eygeris, M. Gupta, J. Kim, G. Sahay, *Acc. Chem. Res.* **2022**, *55*, 2–12.
- [4] A. Bouraoui, M. Berchel, R. Ghanem, V. Vié, G. Paboeuf, L. Deschamps, O. Lozach, T. Le Gall, T. Montier, P.-A. Jaffrès, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 3609–3616.

Analyses des anomalies d'épissage des ARN dans les cancers digestifs avec des instabilités des microsatellites

Enora Le Scanf,^a Danielle Arzur,^a Gweninna Cueff,^a Catherine Le Jossic-Corcos,^a Cédric Le Maréchal,^a Laurent Corcos^a

a- Univ. Brest, GGFB, UMR 1078 INSERM (lescanf.enora@univ-brest.fr)

Les cellules cancéreuses MSI (MicroSatellites Instables) sont caractérisées par un système de réparation de l'ADN nommé MMR (MisMatch Repair) défectueux, dont la conséquence est une instabilité des microsatellites.¹ Les microsatellites sont de courtes séquences nucléotidiques, qui correspondent à la répétition en tandem d'un mono- ou d'un di-nucléotide et qui sont dispersés dans le génome. Le « polypyrimidine tract » (PyT) est un microsatellite intronique localisé en 3' des introns, qui participe à l'épissage de l'exon en aval en interagissant avec la protéine U2AF2 (Figure). L'altération du PyT peut entraîner une anomalie d'épissage se traduisant par l'exclusion partielle de l'exon en aval dans l'ARNm.² L'objectif de ce travail est d'étudier le lien entre des délétions nucléotidiques dans le PyT et la fixation de protéines d'épissage.

Afin d'étudier la capacité de protéines d'épissage à fixer le PyT, dont la séquence est sauvage ou altérée, des expériences de retard sur gel avec des sondes d'ARN pre-messager, présentant ou non l'altération, permettent d'analyser l'interaction, *in vitro*, avec les protéines nucléaires. L'approche *in vivo* se fait par RIP (« RNA ImmunoPrecipitation »), avec un anticorps dirigé contre U2AF2.

L'altération du PyT impacte, *in vitro*, l'interaction ARN pre-messager/protéines nucléaires. Néanmoins, *in vivo*, la protéine U2AF2 semble pouvoir interagir avec des PyT altérés. Pour avoir des données d'affinité PyT/U2AF2 quantitatives, des expériences de résonance plasmonique de surface sont en cours.

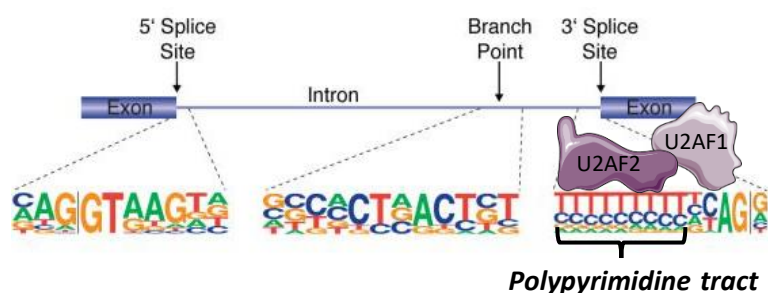


Figure : Séquences introniques participant à la réaction d'épissage. Figure adaptée de McManus CJ, Graveley BR. RNA structure and the mechanisms of alternative splicing. *Curr Opin Genet Dev.* 2011 Aug;21(4):373-9.

Références.

1- Leite, Marina et al. MSI phenotype and MMR alterations in familial and sporadic gastric cancer. *International journal of cancer*; **2011**; vol. 128,7: 1606-13

2-Dorard C, de Thonel A, Collura A, Marisa L, Svrcek M, Lagrange A, et al. Expression of a mutant HSP110 sensitizes colorectal cancer cells to chemotherapy and improves disease prognosis. *Nature Medicine* ; **2011 Oct**;17(10):1283-9.

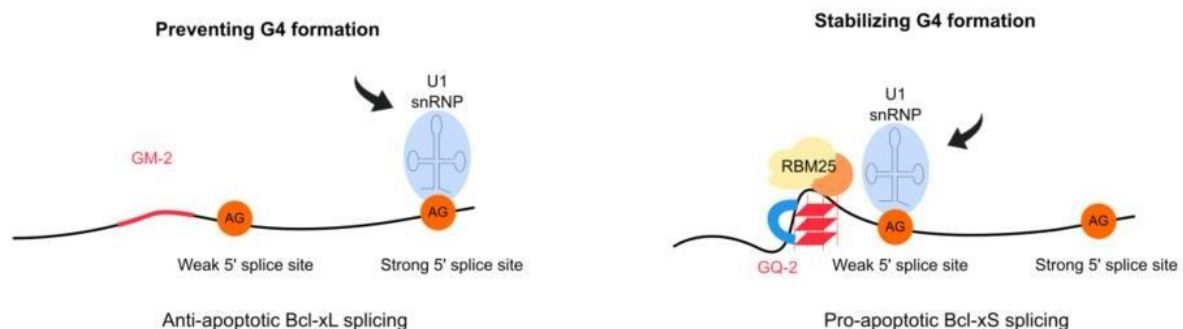
L'épissage alternatif de *BCL-x* est contrôlé par la liaison de RBM25 à un G-quadruplex du pré-ARNm de *BCL-x*

Ronan Le Sénéchal^a, Marc Kérzozoré^a, Alicia Quillévére^a, Nadège Loaëc^a, Van-Trang Dinh^a, Oksana Reznichenko^b, Pedro Guixens-Gallardo^b, Laurent Corcos^a, Marie-Paule Teulade-Fichou^b, Anton Granzhan^b and Marc Blondel^a

^a Univ Brest ; Inserm UMR1078 ; Etablissement Français du Sang (EFS) Bretagne ; CHRU Brest, Hôpital Morvan, Laboratoire de Génétique Moléculaire, 22 avenue Camille Desmoulins, Brest, France

^b Chemistry and Modelling for the Biology of Cancer (CMBC), CNRS UMR9187, Inserm U1196, Institut Curie, Université Paris Saclay, Orsay France

BCL-x est un régulateur majeur de l'apoptose dont le pré-ARNm est soumis à un épissage alternatif qui produit deux isoformes aux fonctions antagonistes : Bcl-xL, une forme longue canonique anti-apoptotique et Bcl-xS, une forme alternative courte pro-apoptotique. La balance entre ces deux isoformes antagonistes est finement régulée et joue un rôle central dans la décision, ou non, d'une cellule à s'engager dans l'apoptose. Ainsi, la surexpression de Bcl-xL est corrélée à une résistance aux chimiothérapies dans certains cancers, tandis que la surexpression de la forme Bcl-xS est associée à des formes de diabète et de maladies cardiaques². Le facteur d'épissage RBM25 contrôle l'épissage alternatif de *BCL-x* : sa surexpression favorise la production de Bcl-xS, tandis que sa sous-expression a l'effet opposé². Nous montrons que RBM25 se lie directement et spécifiquement au G-quadruplex d'ARN (rG4)GQ-2, une structure secondaire non canonique qui peut se former dans les acides nucléiques riches en guanines. Ce rG4 du pré-ARNm de *BCL-x* se forme à proximité du site 5' d'épissage alternatif qui conduit à la formation de l'isoforme Bcl-xS. Cette interaction RBM25/rG4 est cruciale pour la production de Bcl-xS et dépendante du domaine RE (arginine-glutamate-rich) de RBM25, qui représente ainsi un nouveau type de motif d'interaction avec les rG4. De plus, le PhenDC3, un ligand de G4, favorise la liaison de RBM25 au rG4 GQ-2 du pré-ARNm de *BCL-x*, augmentant la synthèse de l'isoforme pro-apoptotique Bcl-xS et ainsi l'apoptose. Favoriser l'interaction entre RBM25 et le rG4 GQ-2 du pré-ARNm de *BCL-x* représente donc un point d'intervention pertinent pour resensibiliser les cellules cancéreuses aux chimiothérapies et nous avons de la sorte identifié de nouveaux ligands de G4 plus efficaces que le PhenDC3.



Références.

- 1- M. Stevens, S. Oltean, *Frontier in Genetics*, **2019**
- 2- A. Zhou, A. Ou, A. Cho, E. Benz, SC. Huang, *Molecular and Cellular Biology*, **2008**

Un système d'acquisition de données multimodales lors de chirurgies éveillées du cerveau : vers l'émergence d'une base de données clinique dédiée

Ilias Maoudi^a, Charles Garraud^a, Céline Panheleux^b, Vanessa Saliou^b, Romuald Seizeur^{a,b} et Guillaume Dardenne^{a,b}

a- Univ. Brest, LaTIM UMR Inserm 1101, ilias.maoudj@etudiant.univ-brest.fr

b- Centre Hospitalier Universitaire de Brest, service de neurologie

Introduction - La chirurgie éveillée (CE) est considérée comme un traitement initial efficace pour gliomes de bas grade (Low Grade Gliomas – LGG) [1]. Lors de la résection des LGG en zone éloquente, la cartographie cérébrale par stimulation électrique peropératoire en condition éveillée s'est avérée essentielle car elle permet d'identifier et de préserver les fonctions neurologiques, tout en maximisant l'étendue de la résection et diminuant le risque de déficit permanent pour le patient.

Matériel et Méthodes - Nous souhaitons créer une solution de suivi peropératoire permettant la l'analyse multimodale de mesures physiologiques (i.e. rythme cardiaque, température, électrocardiogramme, etc) et neurofonctionnelles (i.e. voix et vidéo du patient) en vue de déterminer avec précision la cartographie. Pour cela, nous souhaitons nous appuyer sur des modèles d'apprentissage profond nécessitant un jeu des données conséquent. A ce jour, il n'existe pas de base de données publique dédiée à la CE disponible pour entraîner et valider ces modèles. Nous avons alors développé une solution d'acquisition synchronisée de données multimodales au bloc opératoire (Figure 1.).

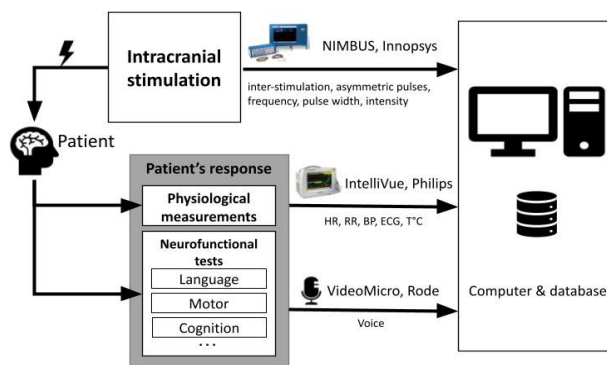


Figure 1: Schéma du système d'acquisition de données comprenant les données du neurostimulateur, les données physiologiques et vocales du patient. Les données sont ensuite envoyées sur un support de stockage adapté.

Résultats - Nous avons testé la solution lors de 5 chirurgies éveillées effectuées au Centre Hospitalier de la Cavale Blanche à Brest. Nous avons pu récupérer avec succès les données synchronisées des différents appareils (moniteur de signaux physiologiques, neurostimulateur, microphone). Nous analyserons dans un premier temps les données vocales.

Références.

1. Soffiatti, R., Baumert, B., Bello, L., Von Deimling, A., Duffau, H., Frénay, M., Grisold, W., Grant, R., Graus, F., Hoang-Xuan, K., Klein, M., Melin, B., Rees, J., Siegal, T., Smits, A., Stupp, R., Wick, W. : Guidelines on management of low-grade gliomas : report of an efn-eano* task force. European Journal of Neurology 17(9), 1124–1133 (2010). <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.03151.x>

Etude de TRPV1 dans le psoriasis

Emilie Marie-Joseph^a, Ophélie Pierre^b, Jean-Claude Lecron^c, Bérengère Fromy^d, Laurent Misery^b, Matthieu Talagas^b et Nicolas Lebonvallet^b

a- Univ. Brest, LIEN, EA 4685, emilie.marie-joseph@univ-brest.fr

b- Univ. Brest, LIEN, EA 4685

c- Univ. Poitiers, LITEC, EA 4331

d- Univ. Lyon, LBTI, UMR 5305

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. En plus de son rôle de senseur, TRPV1 est impliqué dans certains processus d'inflammation et notamment dans des pathologies inflammatoires chroniques(2). Son implication dans le psoriasis, pathologie cutanée inflammatoire, reste à mieux caractériser(3). Dans cette étude, nous cherchons à identifier les types cellulaires dans lesquels l'expression de TRPV1 est susceptible d'être modifiée et ainsi explorer le rôle qu'il pourrait jouer dans la physiopathologie du psoriasis. Pour cela, nous avons analysé des biopsies de peaux de patients atteints de psoriasis. Nous avons également utilisé des techniques d'inhibition pharmacologique de TRPV1 sur différents types cellulaires cutanés, cultivés dans un environnement inflammatoire mimant celui du psoriasis (cocktail M5). Les analyses par RT-qPCR et western-blot indiquent une diminution de l'expression de TRPV1, respectivement dans la peau psoriasique et les kératinocytes en culture. Les analyses biochimiques sont en faveur d'une diminution de la libération de cytokines inflammatoires induites par le M5, par les kératinocytes et les cellules endothéliales, lorsque TRPV1 est inhibé. Ces résultats suggèrent une variation de l'expression et une participation de TRPV1 au cours du psoriasis. Cette étude sera complétée par l'analyse immunohistochimique des biopsies de patients atteints de psoriasis, afin de pouvoir quantifier l'expression kératinocytaire, neuronale et endothéliale de TRPV1.

Références.

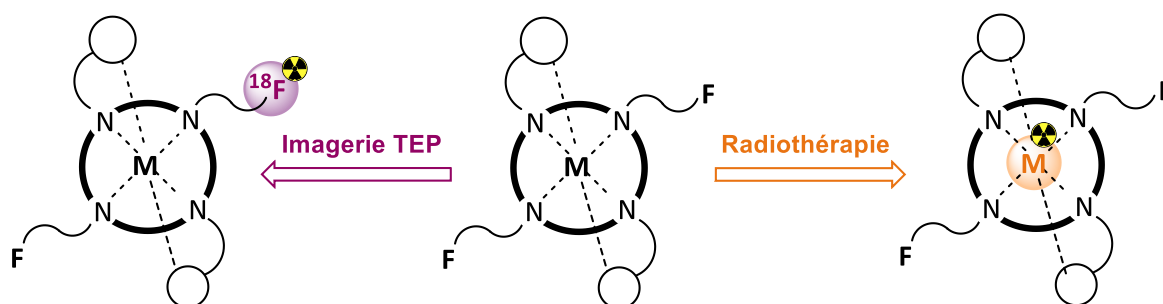
1. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*. oct 1997;389(6653):816-24.
2. Gouin O, L'Herondelle K, Lebonvallet N, Le Gall-Ianotto C, Sakka M, Buhé V, et al. TRPV1 and TRPA1 in cutaneous neurogenic and chronic inflammation: pro-inflammatory response induced by their activation and their sensitization. *Protein Cell*. sept 2017;8(9):644-61.
3. 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.

Synthèse de chélateurs polyazotés porteurs de groupements fluorés pour des applications théranostiques

Charline Sire,^a Thibault Troadec,^a Raphaël Tripier^a

a- Université de Brest, CEMCA UMR-CNRS 6521/IBSAM, UFR Sciences et Techniques, 6 Avenue Victor le Gorgeu, C.S. 93837, 29238 Brest, France. E-mail : charline.sire@univ-brest.fr

Le cancer étant l'une des principales causes de décès prématuré en France et dans le monde, il est nécessaire de développer des techniques d'imagerie plus précises et des thérapies plus spécifiques afin de permettre le diagnostic à un stade précoce et de mettre en place des thérapies plus efficaces. La médecine nucléaire, qui repose sur l'utilisation de radioisotopes pour imager et traiter des cellules cancéreuses, a un rôle central pour répondre à ces problématiques. L'un des enjeux actuels du domaine est le développement de radiopharmaceutiques théranostiques, c'est-à-dire qui permettent la thérapie et le diagnostic avec une seule molécule. Ces radiopharmaceutiques ont l'avantage d'assurer une biodistribution identique lors de l'imagerie et de la thérapie, facilitant ainsi les calculs de dosimétrie et permettant le suivi de l'efficacité du traitement. Cependant peu d'agents théranostiques sont actuellement disponibles et ceux utilisés cliniquement possèdent généralement un seul site qui sera radiomarké par deux isotopes différents, l'un utile à l'imagerie et l'autre à la radiothérapie.¹ Notre objectif est donc de synthétiser un agent théranostique possédant deux sites de radiomarkage distincts, l'un dédié à l'isotope utile en imagerie et l'autre à la thérapie. L'élément le plus utilisé et le plus disponible pour l'imagerie TEP (Tomographie par Emission de Positrons) est le fluor,² alors que pour la radiothérapie, ce sont principalement les éléments métalliques qui sont utilisés (bismuth,³ cuivre, yttrium...). C'est pourquoi nous utiliserons les propriétés de coordination de macrocycles polyazotés associés à leur fonctionnalisation par des groupements fluorés pour permettre la synthèse de radiopharmaceutiques théranostiques innovants.



Références.

- 1- Huang, Y. Yang, Z. Li, F. Zhao, H. Li, C. Yu, N. Hamilton, D. J. Li, Z. J. *Med. Chem.* **2021**, 64, 5, 2705–2713
- 2- Liu, Z. Pourghiasian, M. Radtke, M. A. Lau, J. Pan, J. Dias, G. M. Yapp, D. Lin, K.-S. Bénard, F. Perrin, D. M. *Angew. Chem.* **2014**, 126, 44, 12070–12074.
- 3- Lima, L. M. P. Beyler, M. Oukhatar, F. Le Saec, P. Faivre-Chauvet, A. Platas-Iglesias, C. Delgado, R. Tripier, R. *Chem Commun*, **2014**, 50 (82), 12371–12374.

Résumés « Flash/poster ou poster »

Targeted antimicrobial photodynamic therapy: Controlled delivery of light for spatial eradication of antimicrobial resistant pathogens

Margaux Bonnardot^a, Adeel Nasir^a, Mareike Müller^b, Franck Thétiot^c, Gilles Lemerrier^d, Ulrich Jonas^e, Holger Schönherr^b, Tristan Montier^a, and Tony Le Gall^a

a- Univ Brest, INSERM, EFS, UMR 1078, GGB-GTCA, F-29200 Brest, France – margaux.bonnardot@etudiant.univ-brest.fr

b- Physical Chemistry I & Research Center of Micro- and Nanochemistry and (Bio)Technology (Cμ), Dpmt of Chemistry & Biology, University of Siegen, Adolf-Reichwein-Straße 2, 57076 Siegen, Germany

c- Unité Mixte de Recherche (UMR), Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) 6521, Université de Brest (UBO), CS 93837, 29238 Brest, France

d- Université de Reims Champagne-Ardenne, Institut de Chimie Moléculaire ICMR, 51687 Reims, France

e- Macromolecular Chemistry, Department of Chemistry and Biology, University of Siegen, Adolf-Reichwein-Straße 2, 57076 Siegen, Germany

Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) holds great promise to combat the spread of multidrug resistance (MDR), especially in human pathogens such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* that are responsible for hard-to-treat infections. Typically, the combination of a non-toxic photosensitizer, molecular oxygen and light generates reactive oxygen species capable of killing pathogens in the surrounding environment. In the context of the TARGET-THERAPY project (TTP; <http://www.target-therapy-project.eu/>), we reported that ruthenium(II) ([Ru(II)]) complexes can exert potent photodynamic effects against MDR bacteria. In the present work, we determine whether the controlled local irradiation of photosensitizers such as [Ru(II)] can result in a spatial eradication of bacterial clinical strains. We show that the precise filtering of light from a non-coherent source can allow obtaining well-defined inhibition areas, with a correlation between the light power applied and the antibacterial effects measured on a solid surface (Figure 1). Other tests are done with a light fiber (collaboration with EVOSENS Company, Plouzané, France) in the perspective of targeting the same bacteria *in vivo*, in lung airways. Overall, this work further supports the potential of spatio-temporal antimicrobial photodynamic therapy for various kinds of applications.



Figure 1. “aPDT bio-printing”: Spatially controlled inactivation of a *P. aeruginosa* clinical strain. The TTP logo (A) was reproduced by directing light on an agar plate inoculated with the F1758 strain (Bactome collection, Helmholtz, Germany) mixed with a [Ru(II)] (B). The resolution achieved is better shown in the magnified area in (C).

Éléments *cis*-régulateurs du locus *DFNB1*

Valentine Hoyau^a, Anaïs Le Nabec^a, Clara Blotas^a, Claude Férec^a et Stéphanie Moisan^b

a- Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France, valentine.hoyau@etudiant.univ-brest.fr

b- Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHU Brest, Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France

La surdité congénitale est définie comme une perte auditive qui survient à la naissance, elle a de lourdes conséquences sur l'acquisition du langage oral et sur le développement social. Des études ont permis d'estimer qu'environ 50% des cas de surdité congénitale sont d'origine génétique. Parmi ces surdités on retrouve la surdité *DFNB1* (Nonsyndromic deafness with autosomal recessive inheritance), associée au gène *GJB2* (Gap junction beta 2). Cependant, des cas de surdité *DFNB1* ne sont pas liés directement à des mutations de ce gène mais à des délétions des régions autour. Ces observations laissent penser que des régions *cis*-régulatrices à distance moduleraient ainsi l'expression du gène *GJB2*.

Des études de conformation de la chromatine ont été menées afin de déterminer les contacts entre le promoteur de *GJB2* et d'autres régions. Cela a permis de mettre en évidence des éléments *cis*-régulateurs du gène *GJB2* tels que des *enhancers*, régions activatrices, dont le principal est à -220kb du promoteur de *GJB2*, et de proposer un modèle de régulation du locus *DFNB1*. Cependant des régions restent à caractériser, comme une région à -20kb interagissant avec la région à -220kb du promoteur de *GJB2*. Le modèle établi sur des lignées cellulaires sera validé sur des cellules issues de prélèvements de l'oreille, de témoins et de patients atteints de perte auditive.

Références.

1- S. Moisan, A. Le Nabec, A. Quillévéré, C. Le Maréchal, C. Férec. *Human Genetics*, **2019**, 138(11-12): 1275-86

2- A. Le Nabec, C. Blotas, A. Briset, M. Collobert, C. Férec, S. Moisan. *International Journal of Molecular Sciences*, **2022**, 23(13): 6964

3- A M. Al-janabi, H S. Ahmmed, S M. Al-Khafaji. *JOURNAL of MEDICINE and LIFE*, **2021**, 14(6): 6

Impact des modifications post-traductionnelles de la protéine STIM1 sur son insertion, sa topologie et sa multimérisation à la membrane plasmique.

Maela Hus^a, Léna Bicrel^a, Julie Guellec^b, Nelig Le Goux^b, Marion Travert^b, Anthony Mainguy^b, Olivier Mignen^a

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

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

Stromal Interaction Molecule 1 (STIM1) est une protéine ubiquitaire localisée en condition physiologique à la membrane du réticulum endoplasmique (RE) où elle régule l'influx calcique activé par la libération des réserves calciques contenues dans le RE (Store-Operated Calcium Entry : SOCE). Dans certaines conditions pathologiques, STIM1 est aussi présent à la membrane plasmique (STIM1_{PM}) où elle régule un autre influx calcique, l'Entrée Constitutive de Calcium (ECC). L'ECC participerait à la dérégulation de la signalisation calcique des lymphocytes B de patients atteints de maladies auto-immunes telles que le lupus ou d'hémopathies telle que la leucémie lymphoïde chronique. STIM1_{PM} a été identifiée comme une cible thérapeutique pour le traitement de ces maladies. A ce jour, la présence de STIM1 à la membrane plasmique en contexte pathologique n'est pas expliquée. Nous émettons l'hypothèse que les modifications post-traductionnelles de STIM1 telles que la glycosylation ou la phosphorylation influencent le trafic cellulaire et donc la localisation de la protéine. Pour comprendre l'impact des modifications post-traductionnelles sur l'insertion, la topologie et la multimérisation de STIM1_{PM}, différentes approches sont utilisées. D'une part, une approche pharmacologique par l'utilisation d'inhibiteurs et d'activateurs des voies impliquées dans ces processus et d'autre part, une approche de biologie moléculaire par l'utilisation de mutants de STIM1. A partir d'un modèle cellulaire, l'expression, la topologie et la multimérisation de STIM1_{PM} sont étudiées par cytométrie en flux et par complémentation en luminescence (système NanoBit).

Références.

1- 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. STIM1 at the plasma membrane as a new target in progressive chronic lymphocytic leukemia. *J Immunother Cancer*. 2019 Apr 23;7(1):111. doi: 10.1186/s40425-019-0591-3. PMID: 31014395; PMCID: PMC6480884.

2- Kilch T, Alansary D, Peglow M, Dörr K, Rychkov G, Rieger H, Peinelt C, Niemeyer BA. Mutations of the Ca²⁺-sensing stromal interaction molecule STIM1 regulate Ca²⁺ influx by altered oligomerization of STIM1 and by destabilization of the Ca²⁺ channel Orai1. *J Biol Chem*. 2013 Jan 18;288(3):1653-64. doi: 10.1074/jbc.M112.417246. Epub 2012 Dec 4. PMID: 23212906; PMCID: PMC3548475.

3- Roos J, DiGregorio PJ, Yeromin AV, Ohlsen K, Liudyno M, Zhang S, Safrina O, Kozak JA, Wagner SL, Cahalan MD, Veliçelebi G, Stauderman KA. STIM1, an essential and conserved component of store-operated Ca²⁺ channel function. *J Cell Biol*. 2005 May 9;169(3):435-45. doi: 10.1083/jcb.200502019. Epub 2005 May 2. PMID: 15866891; PMCID: PMC2171946.

Régulation à distance du gène *HAMP*

Axelle Autret^a, Caroline Benech^a, Gérald Le Gac^a, Stéphanie Moisan^b, Chandran Ka^b

a- Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France, axelle.autret1@gmail.com

b- Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHU Brest, Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France

Le projet ENCODE (*Encyclopedia of DNA elements*) a permis d'identifier l'activité de 80 % de l'ADN humain. Il a mis en évidence que l'ADN non codant est associé à de nombreuses séquences régulatrices. En effet, 1 063 878 éléments *cis*-régulateurs candidats humains ont été identifiés. Ces éléments sont des séquences qui sont divisées en plusieurs classes par rapport à leurs fonctions régulatrices (1). Le fer est un oligoélément essentiel pour les organismes vivants. Le maintien de l'homéostasie du fer est assuré par l'hepcidine, une hormone codée par le gène *HAMP*, sécrétée principalement par les hépatocytes (2). Son rôle est de réguler la concentration en fer plasmatique en contrôlant l'activité de la ferroportine, la seule protéine exportatrice du fer connue chez les mammifères (3). La régulation transcriptionnelle du gène *HAMP* est donc un facteur essentiel du métabolisme du fer mais sa compréhension reste aujourd'hui incomplète. La régulation à distance du gène *HAMP* n'ayant encore pas été explorée, je m'y suis intéressée. L'analyse des interactions chromatinienne avec le promoteur de ce gène a été étudiée par la technique 4C (*Circular Chromosome Conformation Capture*) dans la lignée hépatocytaire HepG2, puis les régions candidates mises en évidence ont été analysées par des tests d'activité de type gène rapporteur (4). La technique de 4C a permis d'identifier des interactions entre des éléments *cis*-régulateurs candidats situés à +186 Kb et le promoteur du gène *HAMP*. Des tests d'activité de type luciférase permettront de mieux caractériser ces éléments. Ces études apportent de nouvelles connaissances sur la régulation du gène *HAMP* et pourraient permettre d'expliquer l'hétérogénéité phénotypique observée chez certains patients atteints d'hémochromatose.

Références.

- 1- The ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) Project. (2004). *Science*, 306(5696), 636-640. <https://doi.org/10.1126/science.1105136>
- 2- Ganz, T. (2013). Systemic Iron Homeostasis. *Physiological Reviews*, 93(4), 1721-1741. <https://doi.org/10.1152/physrev.00008.2013>
- 3- Ganz, T., & Nemeth, E. (2012). Heparin and iron homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1823(9), 1434-1443. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2012.01.014>
- 4- Krijger, P. H. L., Geeven, G., Bianchi, V., Hilvering, C. R. E., & de Laat, W. (2020). 4C-seq from beginning to end : A detailed protocol for sample preparation and data analysis. *Methods*, 170, 17-32. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2019.07.014>
- 5- Gasperini, M., Tome, J. M., & Shendure, J. (2020). Towards a comprehensive catalogue of validated and target-linked human enhancers. *Nature Reviews Genetics*, 21(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0209-0>

Préparation de synthons éther-lipides, précurseurs de molécules amphiphiles.

Mathieu Scaviner^a, Hélène Couthon^a, Paul-Alain Jaffrès^a

a- Univ. Brest, CEMCA, UMR CNRS 6521, mathieu.scaviner@etudiant.univ-brest.fr

La dérégulation de l'activité/expression des canaux ioniques est apparue comme une caractéristique commune des cellules cancéreuses. Il est intéressant de noter que la modulation des canaux ioniques anormaux et surexprimés ouvre de nouvelles perspectives dans la chimiothérapie notamment en réduisant la capacité de migration de cellules cancéreuses.¹ Par exemple, les canaux ioniques SK3 sont anormalement exprimés dans les cellules métastatiques (e.g. cancer du sein) et sont impliqués dans la migration de ces cellules cancéreuses.^{2,3} L'Ohmline (Figure 1), un éther-lipide, a montré pouvoir réduire l'activité des canaux SK3 induisant alors une réduction de la migration des cellules cancéreuses.¹ L'Ohmline est un analogue de l'Édelfosine avec une unité lactose dans son domaine polaire, c'est aussi le premier inhibiteur amphiphile efficace et non-toxique de SK3.³ Il est donc intéressant de pouvoir synthétiser ce type de composé avec le minimum d'étape et à l'échelle du gramme ou au-delà. Le contexte du projet s'inspire de la structure lipidique de l'Ohmline pour obtenir trois précurseurs de molécules amphiphiles en explorant de nouvelles voies de synthèses permettant à partir du glycérol ou de dérivés d'accéder à la partie éther-lipidique.^{4,5,6} Ces briques lipidiques serviront par la suite de stock disponible pour être fonctionnalisées pour générer des composés amphiphiles qui seront alors testés comme nouveaux modulateurs potentiels de protéines membranaires.

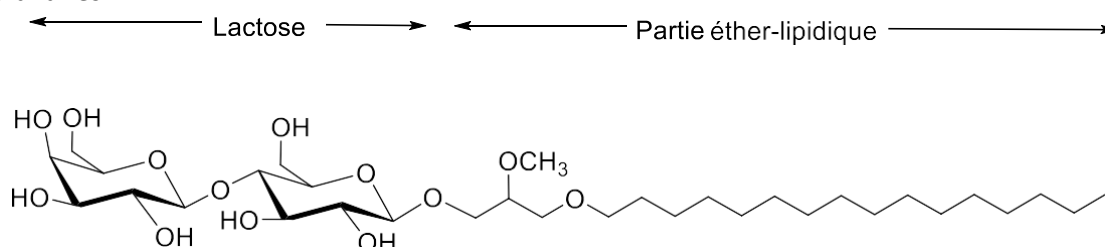


Figure 1 : Structure de l'Ohmline

Références.

- 1- A. Chantôme, M. Potier-Cartereau, L. Clarysse, G. Fromont, S. Marionneau-Lambot, M. Guéguinou, J.C. Pagès,
C. Collin, T. Oullier, A. Girault, F. Arbion, J.P. Haelters, P.A. Jaffrès, M. Pinault, P. Besson, V. Joulin, P. Bougnoux,
- C. Vandier, Cancer Research, **2013**, 73, 4852-61.
- 2- R. Andreesen, Prog. Biochem. Pharmacol., **1988**, 22, 118–131
- 3- C. M. Sevrain, J.-P. Haelters, A. Chantôme, H. Couthon-Gourvès, A. Girault, C. Vandier, P.-A. Jaffrès,
Med.Chem. Comm., **2012**, 3, 1471-1478.
- 4- F. Bauer, K-P. RueB, M. Lieflander, Liebigs Ann. Chem., **1991**, 765 -768
- 5- R. Bittman, H-S. Byun, K.C. Reddy, P. Samadder, G. Arthur, J. Med. Chem., **1997**, 40, 1391-1395.
- 6- W.J. Houlihan, M.L. Lee, P.G. Munder, G.M. Nemecek, D.A. Handley, C.M. Winslow, J. Happy, C. Jaeggi,
Lipids.,
1987, 22(11), 884–890.

Rôle de la mutation $IDH2^{R140Q}$ dans la différenciation érythro-mégacaryocytaire dans les Néoplasies Myéloprolifératives

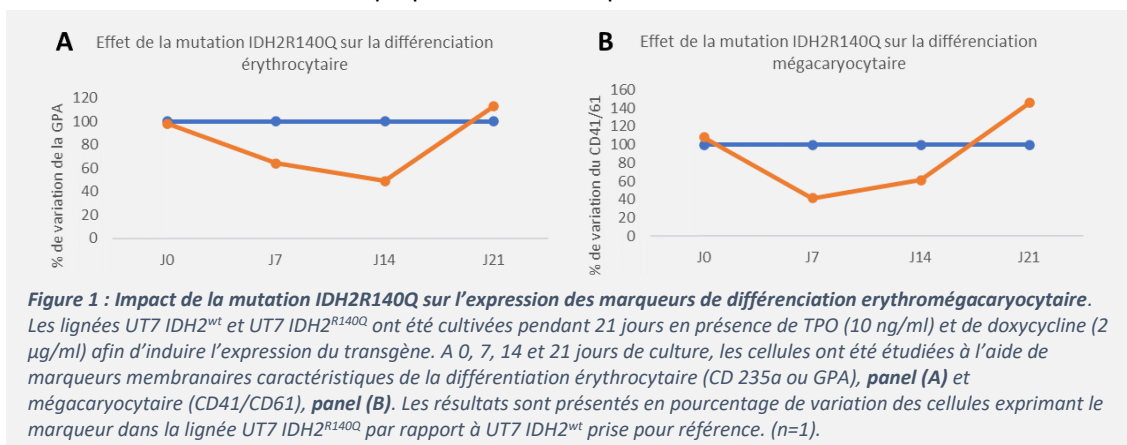
Abrahan Molina Mendoza^a, Marie Hautin-Ropert^a, Wayne-Corentin Lambert^{a,b}, Laurent Corcos^a, Eric Lippert^{a,b}

a- Univ. Brest, INSERM, EFS, UMR1078, GGB, F-29200 Brest, France

abrahan.molinamendoza@etudiant.univ-brest.fr

b- CHRU Brest, Service d'hématologie, Brest, France

Dans les néoplasies myéloprolifératives (NMP), la surproduction de cellules sanguines résulte le plus souvent de l'acquisition de mutations dérégulant la signalisation cytokinique (*JAK2*, *CALR* ou *MPL*). Certaines mutations additionnelles peuvent favoriser une évolution vers des phénotypes plus délétères encore, notamment en leucémie aiguë myéloblastique (LAM)(1), caractérisée par un blocage de différenciation. Les mutations affectant les gènes *IDH1/2*, aboutissant entre autres à une dérégulation globale des marques épigénétiques, sont les plus clairement associées aux transformations en LAM post-NMP (2,3). Le but du projet est d'étudier le rôle d'*IDH2*^{R140Q} dans l'évolution des NMP en LAM grâce à un modèle de lignée hématopoïétique dépendante des cytokines, UT-7, exprimant de manière inductible à la doxycycline la mutation *IDH2*^{R140Q} et pouvant être différenciées vers les lignées érythroïde ou mégacaryocytaire après stimulation par les cytokines appropriées, érythropoïétine (EPO) ou thrombopoïétine (TPO) respectivement. La différenciation des UT-7 est étudiée par le suivi d'expression de marqueurs spécifiques en cytométrie en flux (CMF : CD235a, CD41/CD61) et en RT-qPCR (*GPA*, *HBZ*). Des UT-7 cultivées en TPO et induites pour exprimer *IDH2*^{R140Q} montrent une diminution des marqueurs de différenciation en réponse à l'expression de la mutation *IDH2*^{R140Q} comparativement aux cellules exprimant le transgène sauvage. Ces résultats nécessitent d'être confirmés (expérimentations en cours), mais suggèrent un rôle de la mutation d'*IDH2* dans le blocage de différenciation. Les mécanismes impliqués restent à explorer.



Références.

1. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 9 févr 2017;129(6):667-79.
2. Lu C, Ward PS, Kapoor GS, Rohle D, Turcan S, Abdel-Wahab O, et al. IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature*. mars 2012;483(7390):474-8.
3. Ward PS, Patel J, Wise DR, Abdel-Wahab O, Bennett BD, Collier HA, et al. The Common Feature of Leukemia-Associated IDH1 and IDH2 Mutations Is a Neomorphic Enzyme Activity Converting α -Ketoglutarate to 2-Hydroxyglutarate. *Cancer Cell*. 16 mars 2010;17(3):225-34.

Étude de la physiopathologie des effets secondaires induits par immunothérapies anti-cancéreuses via imagerie de masse

Lucie Kondor^a, Patrice Hemon^b, Philippe Elies^c Jacques-Olivier Pers^d, Divi Cornec^e, Soizic Garaud^f.

a- Univ. Brest, LBAI INSERM UMR 1227 lucie.kondor@etudiant.univ-brest.fr

b- Univ. Brest, LBAI INSERM UMR 1227

c- Univ. Brest, UBO Plateforme PIMM

d- Univ. Brest, LBAI INSERM UMR 1227

e- Univ. Brest, LBAI INSERM UMR 1227

Les récents succès des inhibiteurs de point de contrôle immunitaire (ICI), tels que les anticorps anti-CTLA-4 et anti-PD1/PD-L1, ont radicalement changé le paysage thérapeutique en cancérologie. Cependant, les ICI provoquent un risque important d'effets secondaires liés au système immunitaire (irAE) qui peuvent affecter plusieurs organes et présenter un large éventail de manifestations cliniques, allant de formes légères à délétères, et dont les mécanismes immunitaires responsables sont inconnus. Dans le but de déchiffrer la physiopathologie des irAEs, une approche de co-détection de protéines et de transcrits cytokiniques¹ a été mise au point par imagerie de masse tissulaire afin d'étudier la fonctionnalité des cellules immunitaires infiltrant les tissus cibles des toxicités.

Dans un premier temps, un panel de 14 transcrits de cytokines et chimiokines, incluant IL-4, IL-10, CXCL13, IL-21, IL-13, TNF α , IFN β , TGF β 1, IL-17a, CXCL10, IFN γ , IL-6, LT α et BAFF a été développé par hybridation *in situ* multiplexée à partir de cellules Hela et de tissus d'amygdales inclus en paraffine puis visualisé par microscopie fluorescente. Deuxièmement, les oligonucléotides ont été conjugués avec des métaux pour permettre leur détection simultanée avec les anticorps ciblant les cellules immunitaires (CD138, CD20, CD3, CD4, CD45, CD56, CD68, CD8, FoxP3, Pan-Keratin) par le système d'imagerie de masse. Les résultats préliminaires sur tissus d'amygdale ont révélé une expression d'IL-10 et de TGF β par les cellules non B et une expression de CXCL13, IL-13, LT α et BAFF par les lymphocytes B.

Le microenvironnement immunitaire des tissus cibles des toxicités tels que la peau, le côlon, et le foie sera étudié à l'aide de cette approche de co-détection par cytométrie de masse tissulaire et permettra ainsi une meilleure compréhension de la physiopathologie des irAEs.

Références :

1- Schulz D, Zanotelli VRT, Fischer JR, Schapiro D, Engler S, Lun XK, Jackson HW, Bodenmiller B. Simultaneous Multiplexed Imaging of mRNA and Proteins with Subcellular Resolution in Breast Cancer Tissue Samples by Mass Cytometry. Cell Syst. 2018 Jan 24;6(1):25-36.e5..

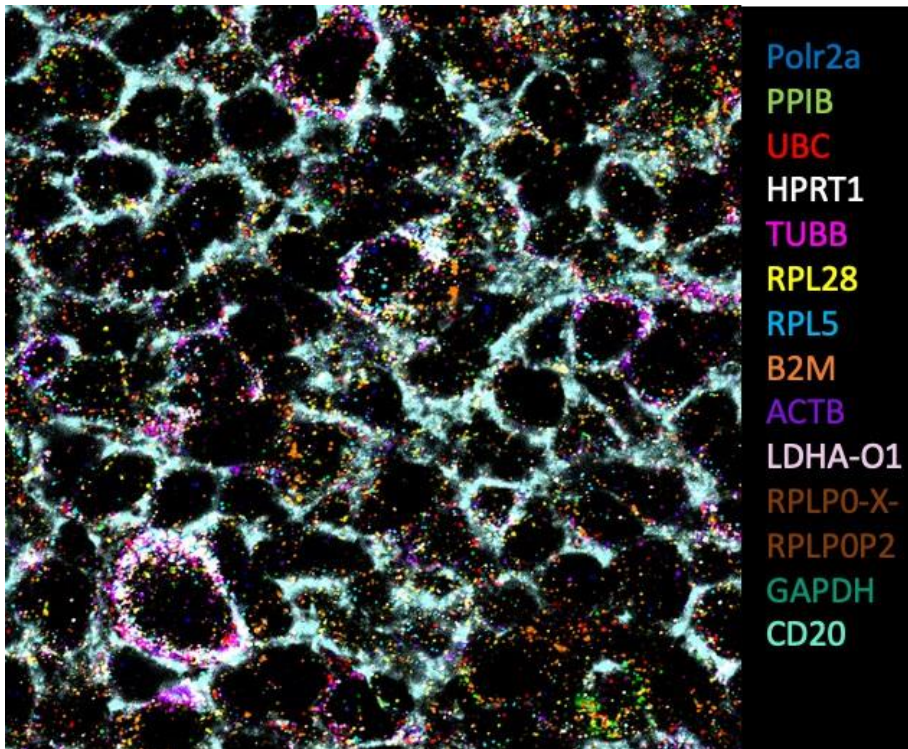


Figure 1 : Approche de co-détection transcrits - protéine en microscopie fluorescente.

Co-détection d'un panel de 12 gènes endogènes par hybridation in situ et d'un marqueur protéique (CD20) par immunofluorescence.

Neuroprotection de l'épiderme en cas de stress inflammatoire

Numa Deydier^a, Nicolas Lebonvallet^a, Matthieu Talagas^a, Laurent Misery^a, Christelle Le Gall-
lanotto^a,

a- Univ. Brest, LIEN, Brest, France
numa.deydier@gmail.com –

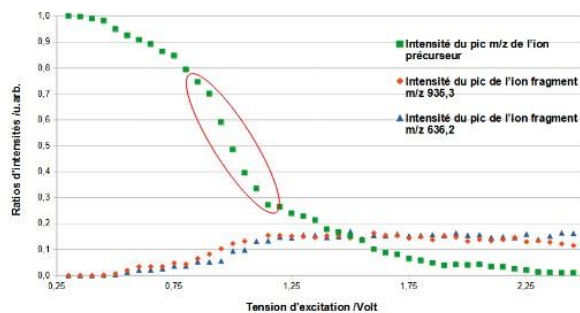
Les terminaisons nerveuses des neurones sensoriels interagissent avec les kératinocytes dans l'épiderme dans les circonstances normales et pathologiques. Des tests préliminaires réalisés au laboratoire montraient une diminution de la réponse inflammatoire des kératinocytes après un stress oxydatif en présence de neurones sensoriels. Nous avons cherché à analyser l'impact des neurones sensoriels sur la réponse inflammatoire des kératinocytes humains lors d'un stress inflammatoire de type dermatite atopique (DA). Pour cela, nous avons utilisé un modèle de culture 2D de kératinocytes primaires humain différenciés ou proliférant en présence ou non de neurones sensoriels issus de ganglions rachidiens dorsaux de rats âgés de 2 à 5 jours. Les cultures étaient ensuite activées par un cocktail inflammatoire mimant la DA (IL-4, IL-13, TNF- α , poly I:C). Des analyses en PCR quantitative de l'expression de la filaggrine (Flg) et de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β et IL-8) et de dosages en ELISA de ces mêmes cytokines étaient réalisés à 24h et 48h. Ce stress inflammatoire induisait une augmentation de l'expression de l'IL-1 β et de l'IL-8, quelles que soient les conditions de culture ; elle était cependant moins importante pour les kératinocytes proliférants que différenciés. De plus, les niveaux d'expression étaient moins élevés lorsque les kératinocytes étaient en présence de neurones à 24H et 48H. Ces résultats étaient corrélés avec les taux de cytokines mesurés dans les surnageants. De nouveau, une différence était observée entre les conditions kératinocytes proliférants et différenciés avec des taux plus élevés observés dans la seconde condition. Le stress inflammatoire induisait une diminution de l'expression de la filaggrine par les kératinocytes différenciés. Cette diminution était significativement moins forte en présence de neurones. La présence de neurones semble jouer un rôle dans la régulation de l'inflammation en diminuant l'impact de celui-ci sur la réponse inflammatoire des kératinocytes et sur leur différenciation. Le mécanisme lié à cet effet reste à élucider. Le rôle de neurotrophines comme le BDNF est en cours d'exploration.

Analyse structurale de peptides cycliques bioactifs par spectrométrie de masse tandem (ESI-MS/MS)

L.Labous¹⁾, A.Maroto¹⁾, F.Arizo¹⁾, C.Enjalbal²⁾, S.Dutertre²⁾; A.Memboeuf¹⁾

a) Univ Brest, CNRS, UMR 6521 CEMCA, F-29200 Brest, France
b) Univ Montpellier, CNRS, ENSCM, IBMM, Montpellier, France.

Les peptides bioactifs suscitent un grand intérêt depuis une vingtaine d'années avec, notamment, des applications en agrochimie ou comme agents thérapeutiques (> 60 peptides actuellement sur le marché dont 2/3 ont des structures cycliques). Les peptides que nous avons étudiés proviennent d'escargots marins, les *conus miliaris*, dont le venin contient des peptides cycliques neurotoxiques, qui sont, par exemple, envisagés comme agents antalgiques[1]. Étant donné la complexité moléculaire de ces venins, il est nécessaire de développer des techniques d'analyse qui soient rapides, robustes et très sensibles afin de bien identifier les espèces moléculaires en présence : c'est ce que nous nous proposons de faire à l'aide de la spectrométrie de masse en mode tandem (voire multi-étapes)[2], couplée à la mobilité ionique et l'UPLC. Nos expériences ont été menées sur des peptides analogues synthétiques, dont les structures ont été vérifiées par RMN et par spectrométrie de masse, de ces peptides de venin de *conus miliaris*[1]. Nous avons utilisé une technique, développée au laboratoire, basée sur la spectrométrie de masse en mode tandem résolue en énergie, avec un piège à ions quadripolaire, afin d'évaluer le potentiel de cette approche pour l'analyse structurale (cf. figure ci-dessous). Nos résultats suggèrent la possibilité d'une analyse structurale plus fine qu'auparavant : 1) par un réglage approprié du spectromètre de masse en mode CID[3,4], et 2) en utilisant des méthodologies spécifiques telles que le « *purification collisionnelle en phase gaz* »[5-7].



» Diagramme de fracture (expérience ESI-MS/MS résolue en énergie) montrant la stagnation des courbes d'ions fragments et la décroissance différente de la courbe de l'ion précurseur à partir de 1,2 V signature d'une structure différente pour l'ion précurseur qui génère de nouveaux ions fragments.

Références.

- 1- J.Giribaldi , L.Ragnarsson , T.Pujante, C.Enjalbal ; Mar. Drugs 2020, 18, 150
- 2- D. Jeanne Dit Fouque et al.; Anal. Bioanal. Chem., 410, 5765-5777 (2018)
- 3- T.S. Neugebauer, A. Memboeuf; J. Am. Soc. Mass Spectrom., 32, 2685-2697 (2021)
- 4- A. Révész et al.; J. Proteome Res., 17, 5, 1898-1906 (2018)
- 5- D. Jeanne Dit Fouque, A. Maroto, A. Memboeuf; Anal. Chem., 88, 10821-10825 (2016)
- 6- A. Maroto, D. Jeanne Dit Fouque, A.Memboeuf; J. Mass Spectrom.; 1-11 (2020)
- 7- E. Logerot, G.Cazals, A. Memboeuf, C.Enjalbal; Anal. Biochem., 655, 114823 (2022)

Le rôle de la glycosylation dans l'acquisition de la fonction B régulatrice

Pauline Kerleroux–Trebaol ^a, Marie Morel ^a, Pierre Pochard ^b, Maryvonne Dueymes ^b, Divi Cornec ^a, Anne Bordron ^a

a- Univ. Brest, LBAI, INSERM UMR 1227 /UBO pauline.kerleroux-trebaol@univ-brest.fr

b- Laboratoire d'immunologie et d'immunothérapie, CHRU Brest, Hôpital Morvan, Brest, France

Les lymphocytes B (LB), par leurs dérèglements, jouent un rôle dans la physiopathologie des maladies auto-immunes (MAI) telles que le lupus érythémateux disséminé (LED) et le syndrome de Gougerot Sjögren (SjS) et des cancers tels que la leucémie lymphoïde chronique (LLC). Plus particulièrement, le LB régulateur, qui intervient sur différents acteurs de la réponse immunitaire en les modulant, a été montré comme défectueux dans ces pathologies. Au-delà de l'aspect thérapeutique, la recherche se focalise aussi sur l'identification de marqueurs ou signatures moléculaires prédictives du développement de ces pathologies, de leurs pronostics et de leurs réponses aux traitements ce qui s'inscrit dans une démarche de médecine de précision.

Parmi ces signatures, la glycosylation suscite un vif intérêt. En effet, elle participe à la mise en œuvre de diverses fonctions physiologiques de la cellule¹. Toute perturbation de ce processus peut conduire au développement de conditions favorables à la pathologie en modifiant par exemple, l'avidité et la réactivité de récepteurs, les interactions et les communications cellulaires etc. Ainsi, des signatures glycosidiques atypiques sur les protéines sériques, les anticorps et sur les LB ont pu être mises en évidence chez les patients atteints d'une MAI² ou d'une LLC³. Ces profils sont apparus comme étant spécifiques de chacune de ces pathologies.

Grâce à la mise au point d'un modèle *in vitro* de différenciation de LB régulateurs, une identification de leur profil glycosidique sera menée. Cette signature sera évaluée chez les patients atteints de MAI ou de LLC afin d'établir si un profil typique peut-être associé à un défaut de cette activité régulatrice. Ensuite, par l'utilisation de différentes drogues modifiant l'activité de certaines enzymes de la glycosylation, nous évaluerons l'impact de ces modifications sur la capacité immunomodulatrice des LB en conditions physiologiques et pathologiques. L'objectif étant de pouvoir caractériser de nouvelles cibles thérapeutiques dans ces maladies et dans faire la démonstration dans des modèles murins.

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- Morel M., Pochard P., Echchih W., Dueymes M., Bagacean C., Jousse-Joulin S., Devauchelle-Pensec V., Cornec D., Jamin C., Pers J-O., Bordron A. Abnormal B cell glycosylation in autoimmunity: A new potential treatment strategy. *Front Immunol*. 2022 Aug 25;13:975963.

3- Bordron A., Bagacean C., Mohr A., Tempescul A., Bendaoud B., Deshayes S., Dalbies F., Buors C., Saad H., Berthou C., Pers J-O., Renaudineau Y. Resistance to complement activation, cell membrane hypersialylation and relapses in chronic lymphocytic leukemia patients treated with rituximab and chemotherapy. *Oncotarget*. 2018 Aug 3;9(60):31590-31605.

Recherche de nouveaux candidats médicaments anticancéreux : Effets comparés sur des cellules cancéreuses gastriques en 2D vs. 3D

Clara Gouez^a, Danielle Arzur^b, Laurent Corcos^b et Catherine Le Jossic-Corcos^b

a- Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France, clara.gouez@etudiant.univ-rennes.fr

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

Résumé en français ou en anglais :

Le cancer gastrique (CG) est le cinquième cancer le plus diagnostiqué dans le monde, et la quatrième cause de mortalité liée au cancer¹. En outre, l'incidence du CG dans le Finistère est la plus élevée au niveau national. Souvent détecté à un stade avancé, le pronostic des patients atteints d'un CG reste sombre, en dépit de l'existence d'un grand nombre de médicaments disponibles, mais restant insuffisamment actifs. Face à ce constat, l'équipe s'est orientée vers du repositionnement thérapeutique (*drug repurposing*) associant une chimiothérapie et un ou plusieurs médicaments non utilisés dans le traitement du cancer. En effet, l'équipe a démontré une majoration de la mort de cellules cancéreuses gastriques cultivées en monocouches adhérentes (culture 2D) ainsi que sur un modèle de sphéroïdes (culture 3D) établi au laboratoire, plus représentatif de la complexité tumorale^{2,3}, en associant la Lovastatine, un agent hypocholestérolémiant, et le Docétaxel, un agent anticancéreux utilisé dans le GC. Puis, un criblage pharmacologique (*drug screening*) a été amorcé avec la chimiothèque Prestwick composée de 1520 médicaments déjà sur le marché et couvrant un large spectre d'indications thérapeutiques, sur des sphéroïdes élaborés à partir de la lignée cancéreuse gastrique HGT1. Ce premier criblage a permis de retenir 90 molécules réduisant la survie cellulaire à moins de 25%. De ces 90 molécules, 19 ont été testées en 2D et en 3D sur des sphéroïdes AGS et HGT1 (deux lignées cellulaires cancéreuses gastriques) et HEK293 (lignée cellulaire rénale embryonnaire non cancéreuse). Parallèlement, la cytotoxicité des chimiothérapies de référence a été évaluée sur ces mêmes modèles d'étude. Trois molécules de la chimiothèque, non utilisées dans les cancers, ont montré des résultats préliminaires positifs directs. Leur association avec des chimiothérapies de référence fera l'objet de nos travaux à venir.

Références.

1. Sung, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* **71**, 209–249 (2021).
2. Follet, J. *et al.* The association of statins and taxanes: an efficient combination trigger of cancer cell apoptosis. *Br J Cancer* **106**, 685–692 (2012).
3. Alzeeb, G. *et al.* Gastric cancer cell death analyzed by live cell imaging of spheroids. *Sci Rep* **12**, 1488 (2022).

Diversité fongique d'aliments moisissus chez les consommateurs et caractérisation de la migration de mycotoxines sur légumes : une première étape pour concilier sécurité microbiologique des aliments et lutte contre le gaspillage alimentaire

Charlotte Réant^a, Philippe Dantigny, Elisabeth Poirier, Amélie Weil, Franck Deniel, Emmanuel Coton, Monika Coton

a - Univ. Brest, INRAE, Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Écologie Microbienne, UR 3882, charlotte.reant@etudiant.univ-brest.fr

Le gaspillage alimentaire est un enjeu majeur mondial en partie dû aux contaminations fongiques (1). Les moisissures peuvent altérer non seulement les qualités organoleptiques du produit contaminé mais aussi potentiellement produire des mycotoxines pouvant poser un risque sanitaire. Dans ce contexte, la thématique de ce travail s'inscrit dans le cadre du projet ANR « MYNION » qui vise dans un premier temps à recueillir des données chez les consommateurs par une approche de science participative pour i) connaître leurs habitudes concernant les aliments moisissus, ii) collecter des échantillons d'aliments contaminés et iii) identifier les moisissures présentes. Durant ce travail, la migration des mycotoxines dans un aliment moisi sera également évaluée en utilisant une hypothèse de migration en 3D récemment développée au laboratoire (2). La campagne de science participative à l'échelle nationale a été lancée et nous sommes en train d'analyser la diversité des moisissures issues des aliments reçus à ce jour. Les premières espèces de moisissures isolées de ces aliments ont été identifiées par une approche moléculaire. Les résultats montrent que ces échantillons sont souvent contaminés par plusieurs moisissures et surtout par des espèces de *Penicillium* et *Aspergillus*, certaines étant potentiellement productrices de mycotoxines. La seconde partie du travail se concentrera sur l'étude de la migration de mycotoxines sur une matrice sensible aux contaminations (légume). Nous sommes en train de comparer la croissance et la production de mycotoxines de 7 espèces de moisissures mycotoxigéniques directement sur différentes matrices de légumes. Les résultats nous permettront de choisir le couple « légume-moisissure » à évaluer pour le risque associé à la migration des mycotoxines dans les aliments.

Références.

1- **FAO. 2011.** Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention. Rome

2- **Coton M, Dantigny P. 2019.** Mycotoxin migration in moldy foods. *Current Opinion in Food Science* **29**: 88–93.

Étude des facteurs et des mécanismes moléculaires impliqués dans la génération et la fonction des lymphocytes B régulateurs

Emie Delmas^a, Marina Boudigou^{a,e}, Jacques-Olivier Pers^b, Divi Cornec^b, Céline Delaloy^{c,e},
Sophie Brouard^{d,e}, Sophie Hillion^{b,e}

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 adaptative par leurs rôles dans la production d'anticorps, et également la sécrétion d'immuno-modulateurs : les cytokines. Une sous- population, appelées LB régulateurs (Breg), a récemment été décrite chez la souris puis chez l'Homme. En conditions physiologiques, ces Breg jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie et de la tolérance immunitaire. Ils ont également été décrits dans différents contextes pathologiques telque l'auto-immunité, les allergies, ou encore les cancers. Les Breg sont caractérisés par une très grande hétérogénéité phénotypique et fonctionnelle¹. Par ailleurs, les voies impliquées dans leur génération ne sont pas encore clairement définies.

Ce projet a pour but d'étudier le signaux micro-environnementaux impliqués dans la génération et la fonction des Breg.

Pour ce faire, le laboratoire a développé un modèle *in-vitro* de co-culture de LB et LT permettant la génération de Breg capables d'inhiber la prolifération des LT ^{2,3} et de produire des cytokines anti-inflammatoires, telles que l'IL10 et le granzyme B. A l'aide d'inhibiteurs de ces cytokines, nous avons pu montrer que le mécanisme anti-inflammatoire de ces Breg est partiellement dépendant du granzyme B dans notre modèle. Par ailleurs, une exploration des profils cytokiniques des LB et LT dans notre modèle, suggère que le microenvironnement pro-inflammatoire apporté par les LT joue un rôle dans l'induction des Breg. Afin d'étudier cette piste, nous avons inhibé certaines cytokines pro- inflammatoires cibles à l'aide d'anticorps bloquants dirigés contre ces cytokines ou leur récepteur. Des résultats préliminaires suggèrent que la neutralisation de la signalisation de l'IL2, inhibe de façon modérée la génération de Breg. Des expériences complémentaires sont en cours afin de valider ces premiers résultats.

Références.

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

29;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** 10;13:818814.

Méthodes spatiales pour l'analyse de données génétiques

Mael GUIVARCH^a, Gaëlle LE FOLGOC^a, Gaëlle MARENNE^a, POPGEN CONSORTIUM^a, Emmanuelle GENIN^a, Aude SAINT PIERRE^{a*}, Anthony HERZIG^{a*}

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

*Contribution égale

mael.guivarch@univ-brest.fr

Le projet POPGEN couvre l'ensemble du territoire métropolitain et regroupe les informations génétiques et géographiques précises de plus de 9772 volontaires issus de la cohorte Constances. Les individus ont été sélectionnés sur la proximité entre les lieux de naissance de leurs grands-parents. Il s'agit donc du plus grand projet en France qui fasse le lien entre géographie et génétique.

Actuellement, la plupart des méthodes permettant de détecter les structures de population n'intègrent pas directement la géographie [1]. Lorsque l'information est disponible, elle est généralement considérée a posteriori pour interpréter les patterns de diversité génétique observés.

On s'appuie ici sur les données du projet POPGEN pour présenter des résultats de clustering génétique qui dévoilent une stratification géographique fine de la population [2,3]. Les résultats de partitionnement font notamment ressurgir clairement des barrières, topographiques ou culturelles, au niveau du Pays basque, du Nord, de la Bretagne et des Vosges.

A partir de ces constatations, on propose de développer des méthodes basées sur l'utilisation des informations apportées par les données spatiales pour analyser plus finement des schémas de stratification génétique et pour mieux comprendre les différences phénotypiques observées dans les différentes régions du territoire métropolitain.

On comparera en particulier deux types d'approches spatiales : d'une part, les méthodes géostatistiques [4,1], telles que le krigeage, qui intègrent des informations géographiques dans l'analyse, et d'autre part les méthodes non-géostatistiques, plus classiquement utilisées en génétique des populations et qui prennent uniquement en compte les distances génétiques entre individus. On montrera notamment que ces deux types d'approches sont complémentaires.

Références.

1- DARLU, Pierre. Les représentations géographiques de la diversité biologique dans l'espèce humaine. *L'Espace géographique*, 1997, p. 341-353

2- SAINT PIERRE, Aude, GIEMZA, Joanna, ALVES, Isabel, *et al.* The genetic history of France. *European Journal of Human Genetics*, 2020, vol. 28, no 7, p. 988. SAINT PIERRE, Aude, GIEMZA, Joanna, ALVES, Isabel, *et al.* Correction: The genetic history of France. *European Journal of Human Genetics*, 2020, vol. 28, no 7, p. 988.

3- HERZIG, Anthony F., VELO-SUÁREZ, Lourdes, FREX CONSORTIUM, *et al.* Can imputation in a European country be improved by local reference panels? The example of France. *bioRxiv*, 2022, p. 2022.02.17.480829.

4-MATHERON, Georges. Principles of geostatistics. *Economic geology*, 1963, vol. 58, no 8, p. 1246-1266.

Exploring the Amyloid- β Oxygen adduct in Alzheimer's Disease: A Mass Spectrometry Study.

Alessia Distefano^a, Antony Memboeuf^b, Giuseppe Grasso^a

a- Chemical Sciences Department, University of Catania, Viale Andrea Doria 6, 95125 Catania, Italy, distefano-alessia@unict.it

b- Univ Brest, CNRS, CEMCA, UMR 6521, F-29200, Brest, France.

Understanding the early-stages of the awkward onset mechanism and progression of Alzheimer's disease is of paramount importance at the global level. The main agonists for the worsening of this pathology are *i)* the metal storage such as copper at the brain level and *ii)* the uncontrollable increase of ROS (Reactive Oxygen Species) due to oxidative stress. The latter can alter the sensitive redox copper equilibrium which in turn can promote the formation of reactive hydroxyl radicals, bringing about the oxidation and the aggregation of Amyloid peptide. Although the research of the starting interaction among oxygen molecules, metals, and Amyloid- β peptide is essential to trigger, at an early stage, the biological mechanisms causing the disease, this remains a challenging task by using common analytical techniques.

Hydrogen peroxide is typically used as oxidizing agent¹ to investigate the oxidative process involving Amyloid- β peptide in aqueous solution. The presence of solvents and salts might, however, compromise the real identity and structure of the species obtained. In order to avoid them, the hindrance is overpassed by means of a mass spectrometer modified *ad hoc*² where the direct use of volatile molecules, inside the instrument, allows to interrogate direct ion-neutral interactions. This approach can provide a deeper knowledge of the reaction mechanism occurring among Amyloid- β peptide, metals, and various molecules (e.g. O₂) giving then accurate information about the affinities and structures of the species obtained.

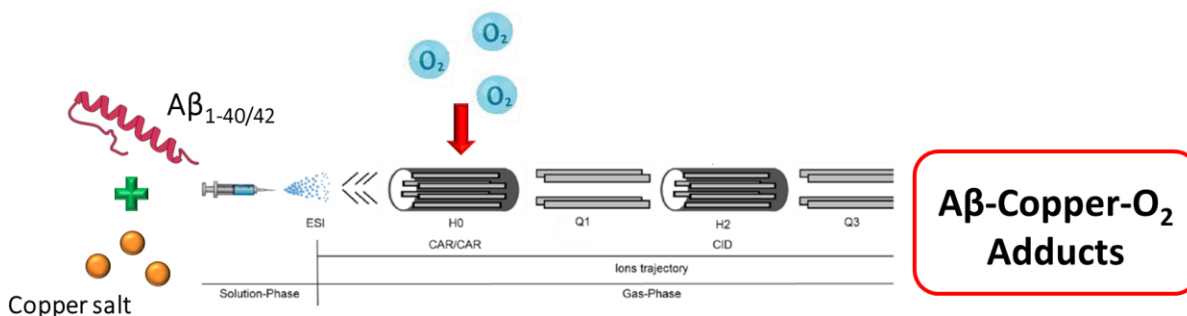


Figure 1 Schematic illustration of the investigation method on the A β -copper-oxygen adducts

Références.

1- S. Nishino, Y. Nishida. *Inorganic Chemistry Communication*, **2001**, 2, 86-89.

2- C. Iacobucci, A. Lebon, F. De Angelis, A. Memboeuf. *Chemistry A European Journal*, **2016**, 52, 18690-18694

Estimation d'informations musculo-squelettiques sur la base des caractéristiques externes de la peau

Oulimata Gueye,^a Valérie Burdin^b, Jocelyne Troccaz^c, Guillaume Dardenne^d

a- IMT Atlantique , LATIM, UMR_S 1101 / INSERM oulimata.gueye@imt-atlantique.fr

b- IMT Atlantique, LATIM, UMR_S 1101 / INSERM

c-Univ. Grenoble Alpes, Grenoble INP, TIMC, CNRS, Grenobled-Univ. Brest, LATIM, UMR_S 1101 / INSERM

Résumé en français

L'estimation d'informations musculosquelettiques est d'une grande importance dans le diagnostic de dysfonctionnements articulaires. Elle fait appel à des techniques précises mais souvent couteuses, encombrantes voire non portables. L'objectif de nos recherches est de pallier ces limites grâce à un algorithme basé sur un Model Statistique de Forme (SSM). Dans ce cadre, un SSM augmenté a été développé afin d'estimer des points repères du fémur en fonction de la forme de la cuisse. Pour ces travaux nous avons utilisé 50 maillages de couples cuisse-fémur issus de la segmentation d'angioscanners fournis par le CHU de Brest. Pour chaque couple on calcule la profondeur cuisse-fémur en projetant, les points du fémur sur la cuisse, selon leur normale. La variation de cette profondeur est combinée à celle de la forme du fémur pour créer le SSM augmenté. Une bonne robustesse du SSM a été obtenue (Spécificité = 0,8mm/2mm, Généralité = 0,9mm/2,3mm (fémur/cuisse)). Ensuite, on estime le fémur en partant de la connaissance de la cuisse en ajustant le modèle à la méthode chaîne de Markov. Les résultats obtenus sont très encourageants et sont en cours d'optimisation. Nous pensons que l'acquisition de la forme de la cuisse avec des caméras de profondeur, puis l'application de notre algorithme pourrait ouvrir des perspectives cliniques pertinentes pour estimer les paramètres musculo squelettiques à partir de la peau.

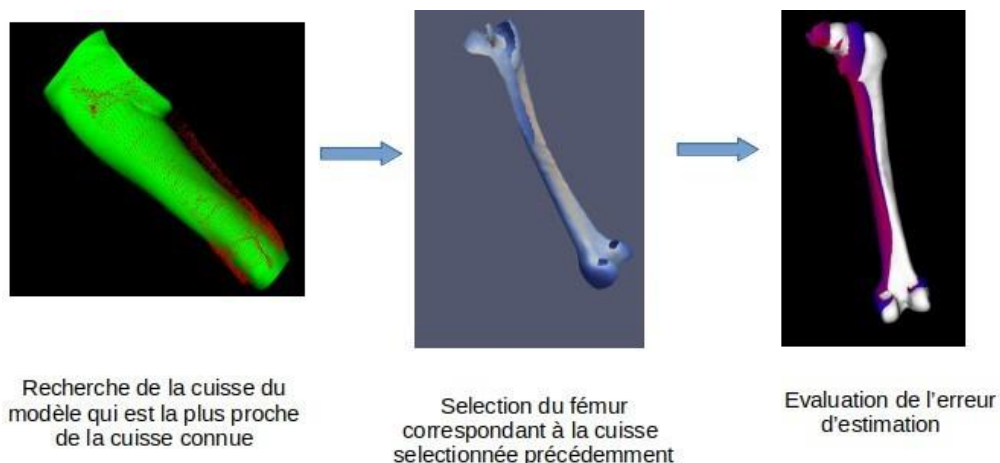


Figure 1: Estimation du fémur en partant de la connaissance de la cuisse

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

Marion Le Rochais a, Patrice Hémon a, Danivanh Ben-guigui a, Soizic Garaud a, Christelle Le Dantec a, Jacques-Olivier Pers a, 2, Divi Cornec a,b , Arnaud Uguen a,b

a- Univ. Brest, LBAI, UMR 1227 mathilde.guillo@univ-brest.fr

b- CHRU Brest

Rationnel : Les structures lymphoïdes tertiaires (SLT) sont des amas lymphoïdes, imitant l'organogenèse des organes lymphoïdes secondaires (OLS), que l'on trouve dans les inflammations chroniques d'organes, notamment dans le côlon au cours des pathologies inflammatoires et cancéreuses.

Objectif : Utilisation du système d'imagerie de masse Hyperion pour réaliser une étude approfondie de la composition des SLT dans le colon.

Méthodes : Etude des SLT de tissus coliques pathologiques par cytométrie de masse par imagerie Hyperion (Fluidigm) à travers un panel de 33 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.

Résultats : 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 structurellement plus organisés que les SLT, ces dernières semblent suivre une évolution progressive et ne répondent pas à une définition unique.

Conclusion : La différence de composition des SLT pourrait avoir une signification diagnostique et pronostique, patient-dépendant représentant un enjeu dans la médecine personnalisée de demain.

Sensibilisation de TRPV1 des neurones sensoriels traités par un cocktail cytokinique mimant le psoriasis

O.Pierre^a, B.Allain^a, E.Prigent^a, T. Le Gall^a, A. Reux^a, O.Mignen^b, L.Misery^{a,c} & N.Lebonvallet^a

^aLaboratoire sur les Interactions Epithéliums-Neurones (LIEN), Université de Bretagne Occidentale, Brest, France.

^bINSERM U1227, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France.

^cService de dermatologie, Centre Hospitalier et Universitaire, Brest, France.

Le psoriasis est une maladie dermatologique chronique inflammatoire et invalidante affectant 1-3 % de la population française. Il est admis que la rupture de l'homéostasie cutanée, dont les neurones sensoriels sont des acteurs majeurs, contribue à la physiopathologie du psoriasis. Leur contribution dans ces mécanismes est mal connue. Le rôle de « *transient receptor potential vanilloid type 1* » (TRPV1), largement exprimé dans les terminaisons nerveuses sensorielles de la peau, joue un rôle majeur dans la sensation de douleur et l'inflammation, principalement par la libération de neuropeptides localement. Il est connu que TRPV1 peut être sensibilisé dans un contexte inflammatoire. Bien que les mécanismes par lesquels des médiateurs inflammatoires sensibilisent TRPV1 aient été étudiés, cela a rarement été abordé dans le psoriasis. Nous avons étudié, *in vitro*, le rôle des neurones sensoriels dans la physiopathologie du psoriasis par le prisme de TRPV1. À l'aide de cultures cellulaires de neurones sensoriels issus de ganglions rachidiens dorsaux de rats néonataux traités par un cocktail de cytokines M5 mimant le psoriasis (l'IL-17A, l'IL-1 α , l'IL-22, TNF- α et de l'oncostatine M) nous avons étudié la sensibilisation de TRPV1. Les résultats montrent une sensibilisation du récepteur TRPV1 (en imagerie calcique) par le cocktail M5 conforté par une augmentation de la libération de neuropeptides observée (dosage ELISA). La sensibilisation de TRPV1 semble ne pas impliquer d'augmentation de l'expression du TRPV1 étudiée en Western Blot et immunocytochimie. Des expériences complémentaires sont nécessaires pour analyser la mécanistique de la sensibilisation de TRPV1 dans les neurones sensoriels.