

- **Éditorial du président**
- **Biotechnocentre actualités**
  - Le nouveau conseil d'administration de l'association depuis Janvier 2024
  - Les doctorants de l'ED549 à l'honneur au 35<sup>e</sup> colloque
- **Entretien avec un chercheur « Le Studium »**
  - Arthur Woods, IRBI, CNRS Université de Tours
- **Vie des laboratoires**
  - Interview de Carlo Pifferi
  - Les LIM kinases, des kinases pas comme les autres (par Béatrice Vallée-Méheust)
- **Nouveaux équipements en Région Centre-Val de Loire**
  - SALSA : « une plateforme IBISA spécialisée Synthèse et Analyse pour La Santé, l'Agronomie et le bien-être » par David Da Silva et Cyril Colas (ICOA, Orléans).
- **Liste des thèses soutenues en 2023**
- **Brèves Biotechnologiques**

## SOMMAIRE

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

Muna Aljieli ; Christian Andres ; Oumaima Ayadi ; Etienne Auvert ; Codruta Badescu ; Hélène Bénédicti ; Marc Bertrand ; Franck Brignolas ; Bertrand Castaing ; Jean-Claude Chénieux ; Paul Cléménçon ; Cyril Colas ; Jean-Louis Dacheux ; Catherine Dagorn-Scaviner ; David Da Silva ; Agnès Delmas ; Antoine De Mori ; Florence Desprez ; Mathias Freville ; Nathalie Guivarc'h ; Cassandra Lopatynski ; Enzo Lezin ; Aurélien Montagu ; Emilie Munnier ; Albert Ngalle-Loth ; Carlo Pifferi ; Gilles Pilate ; Henri Salmon ; Ouléye Sidibe ; Selpine Soulet ; Christelle Suppo ; Nachida Tadrent ; Catherine Taragnat ; Dieudonnée Togbe ; Béatrice Vallée-Méheust ; Marie-Claude Viaud-Massuard ; Arthur Woods

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

Chères et chers collègues et doctorant(e)s,

Prenant la présidence de Biotechnocentre pour 2024 et 2025 à la suite de Catherine Taragnat, je voudrais tous d'abord la remercier et la féliciter pour avoir mené brillamment l'association pendant ces 2 dernières années, en ligne avec tous nos objectifs dont certains avaient été redéfinis dans le cadre de la validation de Biotechnocentre pour la 2<sup>e</sup> fois en tant que réseau thématique recherche (RTR) par le Conseil Régional (CR) Centre-Val de Loire.

L'association Biotechnocentre, dont l'objectif a toujours été l'animation scientifique des équipes de la région, continue cette année sa route déjà très longue. Je voudrais profiter de cette opportunité pour balayer rapidement comment Biotechnocentre a évolué au fil de ses années d'existence.

Mise en place en 1987 sous l'impulsion des professeurs Jean-Claude Chénieux et Michel Monsigny, Biotechnocentre a eu comme objectif constant l'organisation d'un colloque annuel en automne et a également rapidement permis, via son appel à projet, de soutenir des projets de recherche inter-équipes, du secteur public comme du secteur privé, après sélection et attribution de soutiens financiers qui étaient obtenus des Départements, de la D2RT et du CR. Une présentation des résultats des projets financés était généralement réalisée lors du colloque annuel suivant la fin des projets.

Après de nombreuses années, cet appel d'offre s'est effacé devant celui mis en place directement par le CR, et Biotechnocentre s'est rapproché alors de l'école doctorale en 2010 sous l'impulsion du professeur Franck Brignolas. Toujours grâce à un soutien annuel sans faille de la part du CR, ce rapprochement a permis d'intégrer les étudiants à la communauté scientifique de la région via la présentation de leurs travaux ainsi que par les échanges avec des chercheurs confirmés lors de chaque colloque annuel.

Retenu comme RTR par le CR en 2014 (sous la présidence de Nathalie Guivarc'h) avec un financement sur 4 ans (2014-2018), une ouverture vers une communauté plus large a été possible via une journée thématique annuelle gratuite organisée sur un thème d'actualité (voir à la fin de l'éditorial la liste des thématiques abordées, leurs résumés ainsi que pour certaines les vidéos étant disponibles sur le site Internet). Confirmé en 2019 comme RTR pour une 2<sup>ème</sup> période (sous la présidence de Christian Andres) avec un financement sur 4 ans (2019-2022), rallongé d'un an à la suite de l'année Covid, Biotechnocentre a pu ajouter la proposition de bourses de mobilité européenne à 2-3 étudiants chaque année pour aider par la même occasion le rapprochement d'équipe de la région avec des équipes européennes, et également organiser 2 journées thématiques supplémentaires (une en 2021 sur les coronavirus et une en 2023 inter-réseau sur la vigilance environnementale).

Ce deuxième RTR pour Biotechnocentre a pris fin en décembre 2023, et le CR est en train de revoir son dispositif de financement de la recherche en région Val de Loire, dans une optique interdisciplinaire et dirigée vers les grands défis sociétaux, notamment en matière de santé humaine. Lorsque l'appel d'offre pour le nouveau dispositif sera lancé, vraisemblablement d'ici fin 2024, Biotechnocentre étudiera si une nouvelle évolution, sur la base des objectifs qui ont fait sa renommée, est possible pour aller dans le sens de la nouvelle politique régionale en matière scientifique, et postuler alors pour continuer la relation de confiance avec le CR qui a permis à Biotechnocentre de maintenir des frais d'inscription particulièrement faibles et des journées d'information scientifiques gratuites.

Cette année, et cela malgré la période quelque peu incertaine pour son avenir, Biotechnocentre reste néanmoins concentré sur l'organisation du 36<sup>ème</sup> colloque qui aura lieu les 17 et 18 octobre 2024 à La Ferme de Courcimont, toujours dans la continuité de l'animation pour et avec l'école doctorale, ainsi que sur la journée thématique du 21 juin 2024 sur le thème de l'intelligence artificielle (inscription au Webinaire via le site du Studium à l'adresse suivante : <http://www.biotechnocentre.fr/>). En revanche, la proposition de bourses à mobilité Européenne s'arrête, provisoirement nous l'espérons.

Pour finir, je tiens à remercier l'ensemble des membres du conseil d'administration de Biotechnocentre, les plus anciens, les moins anciens ainsi que les nouveaux, car l'association ne pourrait pas exister sans tous ces bénévoles très impliqués.

Nous comptons sur vous pour participer nombreux à nos événements de cette année, et pour nous communiquer votre éventuel souhait de rejoindre le CA de Biotechnocentre si vous êtes tentés.


Bien à vous,

**Marc BERTRAND**

*Président de Biotechnocentre*

## Le nouveau Conseil d'Administration de l'association depuis janvier 2024


**Le nouveau bureau de Biotechnocentre - Janvier 2024-décembre 2025**




**Hôtel Mercure, CA du 19 décembre 2023, Blois  
Passage de témoin entre Catherine et Marc**

**Président**  
**Marc BERTRAND**  
*Ex-Servier, Orléans*

**Vice-Présidentes et secrétaires**




**Emilie MUNNIER &**  
*NMNS, Univ. Tours*



**Catherine TARAGNAT**  
*PRC, INRAE, Nouzilly-Tours*

**Trésorière**



**Agnès DELMAS**  
*DR émérite, CNRS, Orléans*

### Le bureau

#### Président

- **Marc Bertrand**, Chef de Département « Recherche Biopharmaceutique », Technologies Servier, Orléans

#### Vice-Présidentes et Secrétaires

- **Emilie Munnier**, Professeure, NMNS, Université de Tours
- **Catherine Taragnat**, Directrice de recherche INRAE, UMR PRC, Tours-Nouzilly

#### Trésorière

- **Agnès Delmas**, Directrice de recherche émérite, CBM, CNRS, Orléans

### Autres membres

- **Christian Andrès**, Professeur, INSERM U930, CHU, Tours
- **Franck Brignolas**, Professeur, EA 1207, Université d'Orléans
- **Bertrand Castaing**, Directeur de recherche CNRS, CBM Orléans - *Lettre d'information, Représentant ED549, Correspondant entreprises et CNRS*
- **Catherine Dagorn-Scaviner**, Ex-Correspondante Conseil Régional, Tours
- **Isabelle Gillaizeau**, Professeure, ICAO, UMR7311 CNRS Université d'Orléans
- **Nathalie Guivarc'h**, Professeure, EA 2106, Université de Tours
- **Denis Marchand**, Chef de projets « Innovation-Bio-médicaments, Polepharma, Faculté de médecine, Tours
- **Aurélien Montagu**, Scientific Relations Manager, Le Studium, Orléans
- **Gilles Pilate**, Directeur de recherche INRAE, UR0588 AGPF, INRAE, Ardon
- **Dieudonnée Togbé**, Professeure, INEM, CNRS Université d'Orléans
- **Marie-Claude Viaud-Massuard**, Professeure, CEPR, UMR Inserm U1100, Université de Tours

### Commission École Doctorale 549 « Santé, Sciences Biologiques et Chimie du vivant » (SSBCV), Universités Orléans-Tours

- **Christelle Suppo**, Directrice, Professeure, Université de Tours, IRBI, Tours
- **Hélène Bénédicti**, Co-directrice, Directrice de recherche CNRS, CBM Orléans, Responsable à l'Université d'Orléans

### Membres invités permanents

- **Catherine Beaumont**, Vice-Présidente en charge de la commission de la recherche (SST) et des relations avec les grands organismes, Université de Tours
- **Anne Besnier**, vice-Présidente du conseil régional Déléguée à l'enseignement supérieur et à la recherche
- **Pascal Bonnet**, Professeur et Vice-président du conseil académique en charge de la commission de la recherche de l'Université d'Orléans
- **Stéphane Cordier**, Professeur et Délégué régional adjoint à la recherche et à la technologie - DRRT Adjoint (MESRI/DGRI), Orléans
- **Marc Guérin**, Président du Centre INRAE Val de Loire
- **Philippe Loiseau-Dubosc**, Chargé de mission et Correspondant pour le Conseil Régional RCVL, Orléans
- **Ludovic Hamon**, Délégué régional du CNRS Centre Limousin Poitou Charente)
- **Mustapha Si-Tahar**, Représentant de l'INSERM GO

### Membres d'Honneur

- **Jean-Claude Chénieux**, Professeur Honoraire à l'Université de Tours
- **Michel Monsigny**, Professeur Honoraire, Université d'Orléans
- **Jean-Louis Dacheux**, Directeur de Recherche Honoraire CNRS - *Responsable logistique colloque*
- **Henri Salmon**, Directeur de Recherche Honoraire INRAE, Tours-Nouzilly - *Responsable du site web*

# Le 35<sup>e</sup> colloque de Biotechnocentre



Crédit: Photos Jean-Louis Dacheux

Instants choisis au 35<sup>e</sup> colloque de Biotechnocentre

## Les doctorants de l'ED 549 à l'honneur au 35<sup>e</sup> colloque

Sous l'impulsion du Professeur Franck Brignolas (Président de l'Association 2012-2013) et des professeurs Luigi Agrofoglio et Philippe Roingard, Biotechnocentre a établi en 2012 un partenariat fort avec l'École Doctorale 549 « Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant » commune aux Universités d'Orléans et de Tours. Biotechnocentre participe ainsi à l'animation de l'ED549. Comme nous en avons pris l'habitude depuis 2012, un appel à résumé a été lancé par l'ED549 au printemps 2023. Les membres du Bureau ont retenu 9 doctorants pour des présentations orales réparties équitablement dans les quatre filières de l'ED, 48 doctorants pour des présentations par affiche et 22 présentations courtes d'affiches (communications « pitch »). 2 prix de 750 € ont été attribués aux deux meilleures présentations orales (toutes filières confondues), 8 prix de 250 € ont récompensés les huit meilleures affiches de chaque filière (supportés financièrement par nos partenaires du secteur privé), 3 prix de 100 € ont été attribués aux meilleures présentations « pitch » et 1 prix de 250 € pour une communication orale suite aux retours des doctorants ayant reçu un soutien financier pour une mobilité européenne. Les membres du bureau de l'ED549 et du Conseil d'Administration de Biotechnocentre, tiennent à vivement remercier tous les doctorants qui ont participé au 35<sup>e</sup> Colloque. Nous avons tous apprécié la qualité scientifique de vos présentations, le soin apporté aux supports de vos travaux et la clarté de vos propos. Nous comptons sur vous pour être de bons ambassadeurs de ces journées et espérons vous compter parmi nous au 36<sup>e</sup> Colloque qui se tiendra les 17 et 18 octobre 2024 au Village Vacances « La Ferme de Courcimont » à Nouan le Fuzelier (41).



### • Prix « Communication orale »

#### Rational Design of Versatile and Highly-Luminescent Lanthanide(III)-Based Probes for Optical Imaging in the NIR-II Window

Lanthanide(III) (Ln(III)) complexes possess unique optical properties due to their electronic transitions within the shielded 4f valence orbitals. Particular attention is given to the Ln(III) probes emitting in the near-infrared (NIR) range, since they demonstrate unique perspectives as imaging agents for biological applications. Specifically, luminescence imaging in the near-infrared II (NIR-II, 1000-1700 nm) range is attracting a strong interest among modern in vivo

imaging techniques due to lower background interference, deeper tissue penetration and higher resolution at greater depths in comparison to the imaging in the NIR-I or visible regions. Considering these advantages, NIR-II imaging opens new perspectives for a broad range of biological applications such as image-guided surgery, precise detection of tumor margins and early detection of a broad range of diseases. Ln(III)-based metallacrowns (MCs) have been proven to be one of the most promising system for the sensitization of Ln(III) luminescence in the NIR range and demonstrated exciting biological imaging applications. However, today, Ln(III) emission in the

MCs can only be sensitized using UV light, which can be detrimental to biological systems and unsuitable for in vivo optical imaging applications. In this study, we describe different approaches to tune the photophysical properties of dimeric Ln(III)/Ga(III) MCs, more specifically, how the range of their absorption/excitation wavelengths can be shifted to the visible or the NIR ranges. Peculiarities of design and synthesis, including strategies to obtain functionalized ligands for the controlled assembly of Ln(III)/Ga(III) MCs and studies of photophysical properties are discussed.



**Codruta BADESCU**  
(CBM, UPR4301 CNRS, Orléans) **Filière C**

*« After participating two years in a row at the Biotechnocentre seminar, I can say that I find it an amazing occasion to broaden your horizons, through the variety of topics to be addressed and the quality of the invited speakers. Most importantly, I consider it an incredible opportunity for networking. I would like to thank once again the organizers for choosing me to present my project, and of course, for the award. »*

• **Prix « Communication orale »**

**Caractérisation fonctionnelle de variants du gène DPYSL5 impliqués dans les troubles du neurodéveloppement avec malformations cérébrales**

Le gène DPYSL5 (Dihydropyrimidinase like 5) code pour une protéine cytoplasmique qui régule le guidage axonal et la croissance neuritique. Trois variants de novo faux-sens (p.Glu41Lys, récurrent ; p.Gly47Arg ; p.Glu25Lys) dans le gène DPYSL5 ont été identifiés chez des patients atteints de déficience intellectuelle sévère avec agénésie du corps calleux. Des données antérieures montrent la présence de DPYSL5 dans le protéome synaptique suggérant un rôle dans le neurone mature. L'objectif de ma thèse est de clarifier le rôle physiologique et pathologique de DPYSL5 au niveau synaptique. Nous avons étudié des cultures primaires neuronales d'hippocampe de souris afin d'évaluer leur impact sur le développement et la maturation des synapses. La surexpression transitoire de la forme sauvage de DPYSL5 provoque une augmentation de la densité synaptique et de la maturation des épines dendritiques. A contrario, le variant p.Glu25Lys n'induit pas d'augmentation du nombre total de synapses et les variants p.Glu41Lys et p.Gly47Arg entraînent une perte d'effet de DPYSL5 sur la maturation des épines dendritiques. L'évaluation des conséquences de l'inactivation de Dpysl5 sur l'expression de protéines synaptiques, à l'aide de cerveaux issus de modèles murins transgéniques (Dpysl5<sup>-/-</sup> et Dpysl5<sup>+/-</sup>), a révélé

que l'expression de PSD95 et de vGLUT1 est altérée chez les souris Dpysl5<sup>-/-</sup> par rapport aux souris WT. Parallèlement, nous avons constaté une diminution de l'expression de la protéine vGAT présente dans les synapses inhibitrices chez les souris Dpysl5<sup>WT/E41K</sup> porteuses de la mutation récurrente. De plus, les souris transgéniques Dpysl5<sup>WT/E41K</sup> montrent de l'hyperactivité, de l'anxiété et des troubles de la mémoire conceptuelle (dépendante de l'hippocampe). Ces résultats démontrent l'implication de DPYSL5 dans la synaptogenèse et la transmission synaptique excitatrice/inhibitrice, et confirment la pathogénicité des mutations de DPYSL5 à l'origine d'un développement anormal du cerveau.



**Florence DESPREZ**  
(Ibrain, UMR1253 Inserm-Université de Tours) **Filière A**

*« Le colloque Biotechnocentre permet d'assister à des conférences de qualité sur des thématiques très diverses. J'ai apprécié de faire la connaissance de doctorants et chercheurs de la région et de pouvoir échanger sur nos parcours ainsi que de partager des discussions scientifiques et des moments conviviaux. »*

• **Prix « Affiche » Filière A**

**Élucidation de la voie de biosynthèse de l'ajmaline : un médicament antiarythmique issu de Rauvolfia tetraphylla.**

Les alcaloïdes indoliques monoterpéniques (AIM) sont des métabolites spécialisés aux activités biologiques importantes produits seulement par certaines plantes. Je vais me focaliser sur l'ajmaline provenant d'une plante tropicale appelée le poivre du diable (*Rauvolfia tetraphylla*) qui lui permet de s'adapter à son environnement. De plus, l'ajmaline s'avère être devenue un puissant agent antiarythmique mais, malheureusement, sa production est limitée à son extraction à partir de tissus végétaux entraînant un épuisement des ressources naturelles. Pour maintenir les stocks d'ajmaline, il est envisageable de la produire en « cellule-usine » : en levures en bioréacteur. Pour cela, il faut élucider entièrement sa voie de biosynthèse très complexe afin de la reproduire dans ce nouveau système innovant. A ce jour, toutes les enzymes sont actuellement connues à l'exception d'une dernière. Comme d'autres groupes de recherche, je suis rentré dans cette compétition afin de trouver la réductase manquante agissant en position 1,2 sur le groupement miminium.

Pour cela, le génome de cette plante a été séquencé à l'échelle chromosomique pour trouver des gènes



candidats. Ces gènes candidats ont été amplifiés et clonés dans un plasmide permettant leur expression en système hétérologue, *Nicotiana benthamiana*. C'est dans ce système que les tests enzymatiques de chaque candidat ont été effectués. J'ai pu montrer que 2 d'entre eux sont capable de former une toute nouvelle réduction sur la molécule attendue. D'après les spectres UV des produits obtenus spécifiquement, il s'avère que ces enzymes, nouvellement appelées 1,2-Vomilenine Réductase, sont capables de réaliser la dernière réduction manquante en position 1,2 dans la voie de l'ajmaline.

Ce résultat très prometteur pourrait permettre d'envisager de produire de l'ajmaline en « cellule-usine » afin de maintenir la pérennité du poivre du diable et surtout de sécuriser l'approvisionnement en ajmaline.



**Enzo LEZIN** (Biomolécules et Biotechnologies Végétales, BBV, EA2106, Université de Tours)

« Ce 35<sup>e</sup> colloque BioTechnocentre m'a permis d'assister à de nombreuses présentations afin de découvrir les multiples domaines de recherche de la région. Durant ces deux journées, j'ai pu échanger avec de nombreux participants et leurs présenter mes résultats sous forme de poster. La ferme de Courcimont permet de rencontrer tous les doctorants de la région d'un point de vue professionnel et personnel ! »

#### • Prix « Affiche » Filière B

**PDL-1 antibody fragment expressed on the cell surface Enhances the Targeting and Therapeutic Efficacy of *Toxoplasma gondii* -mediated Cancer Therapy.**

One of the most interesting advances in cancer therapy has been the use of antibodies to block the PD-1/PD-L1 interaction. These antibodies have allowed patients with a variety of malignancies to have long-lasting remission. However, PD-1/PD-L1 blocking therapy is only useful in a limited percentage of patients. Hence, Novel therapeutic approaches are required to optimize anti PD-1/PD-L1 therapy. The team BioMAP has been working on optimizing cancer immunotherapy by using two live oncolytic parasites – *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*-. These two protozoa can induce strong cellular immune response in the infected host and are extremely promising agents for anti-tumor therapy.

In this research work, we aimed at synergizing the oncolytic activity of *T. gondii* and the PD-1/PD-L1 blockade. A recombinant *T. gondii* expressing anti-



PD-L1 single chain Fragment variable (scFv) on its surface was engineered. *In vitro* studies confirmed that the surface display of anti-PD-L1 increased the targeting of human and murine PD-L1 expressing tumor cells. This recombinant *T. gondii* can efficiently infect and lyse PD-L1 expressing tumor cells resulting in higher cytotoxicity than that induced by wild type *T. gondii*. In addition, the anti-PD-L1 on the surface of recombinant *T. gondii* can block PD-1/PD-L1 interaction as shown in a co-culture system of tumor cells (MDA-MB-231) and immune cells (NK-92).

This research work presents *T. gondii* as a novel strategy for increased targeting and cytotoxicity of PD-L1-expressing tumors combined together with blocking of PD-1/PD-L1 axis and re-activation of exhausted immune cells. It is a promising approach to be considered for *in vivo* experimentations and evaluation.



**Muna ALJIELI** (ISP, UMR1282 INRAE-Université de Tours, Nouisilly)

« *Biotechnocentre conference is always a terrific opportunity for meeting other doctoral students and researchers. It is a great place to be introduced to a variety of scientific work because of how widely varied the content that is presented. Students and researchers get together in a laid-back, pleasant environment that is ideal for networking and experience sharing.* »

#### • Prix « Affiche » Filière B

**Characterization and quantification of antibiotic resistance gene variants in gut microbiota**

Le monde atteint un point où l'efficacité des antibiotiques pourrait être complètement compromise dans un avenir proche si la résistance aux antimicrobiens (RAM) continue de se répandre à l'échelle mondiale. Le microbiote intestinal des humains et des animaux domestiques est soupçonné d'être le principal réservoir de bactéries résistantes aux antibiotiques et donc de gènes de résistance aux antibiotiques (GRAs). Les progrès des technologies de séquençage de l'ADN, et plus particulièrement des approches métagénomiques, ont montré que plusieurs GRAs sont répandus et partagés par la plupart des microbiotes intestinaux. Bien que la diversité nucléotidique soit documentée pour les GRAs bien connus, la distribution spécifique de chaque variante de GRA dans les résistomes intestinaux est encore totalement inconnue. Mon projet vise donc à comprendre si les GRAs décrits comme identiques dans différents microbiomes sont les mêmes ou plutôt des variants.



Nous appelons « variants » un groupe de gènes très proches qui diffèrent de quelques variations de séquences.

Pour ce faire, nous adaptons DESMAN, un algorithme précédemment développé pour reconstruire les génomes des souches bactériennes à partir de données métagénomiques. À partir de 55 métagénomiques de caeca de poulets, nous avons détecté les GRAs avec l'outil ResFinder avant de les clusteriser à 95% d'identité pour la détection de leurs variants. Parmi les 22 GRAs dominants analysés, 15 ont au moins 2 variants stables et 7 (ant(6), blaTEM-1, erm(B), erm(F), tet(Q), tet(L) et tet(32)) ont des variants montrant des proportions différentes entre les échantillons en fonction des conditions d'élevage et de l'âge des animaux. Ces résultats attestent de la fiabilité de cet outil pour reconstruire différentes variantes du même gène de résistance directement à partir de données métagénomiques et pour déduire leurs proportions relatives dans différents échantillons. Cela ouvre la voie à une analyse plus approfondie de leurs transmissions entre les microbiomes de différents hôtes.



**Ouléye SIDIBE** (ISP, UMR1282 INRAE-Université de Tours, Nouisilly)

*« Pour ma première participation au colloque du Biotechnocentre, cela a été une expérience extrêmement enrichissante, notamment en termes de diversité des expertises scientifiques et de représentation de la communauté doctorante. C'était une belle opportunité de faire de nouvelles connaissances, d'apprendre des autres, le tout dans une atmosphère conviviale. »*

#### • Prix « Affiche » Filière C

**Développement de matrices d'ARNm thérapeutiques et évaluation de leur potentiel ostéogène pour la réparation du tissu osseux**

De nombreux matériaux, d'origine naturelle ou synthétique, peuvent être utilisés pour créer une matrice adaptée à la régénération du tissu osseux. Cependant, bien que ces matrices soient ostéoconductrices, c'est-à-dire qu'elles permettent la croissance de l'os, elles sont souvent incapables d'induire la régénération de larges défauts osseux. En effet, ces matériaux ne sont pas capables, par eux-mêmes, de recruter et stimuler efficacement les cellules ostéoprogénitrices pour les différencier.

Des éléments bioactifs comme des protéines ou des cellules peuvent être utilisés pour induire la formation d'os.



Parmi les protéines ostéo-inductrices, il existe les « protéines morphogénétiques osseuses » (BMP), qui ont la capacité d'induire la différenciation de cellules souches en ostéoblastes, cellules responsables de la synthèse de la matrice osseuse. Les BMP peuvent donc être utilisées pour améliorer le potentiel ostéogène des matrices.

Ayant pour objectif de produire une matrice ostéoconductrice et ostéo-inductrice chargée d'ARNm codant pour des BMP, nous avons développé et caractérisé un liposome capable de délivrer efficacement de l'ARNm. Nos résultats montrent que notre vecteur est capable de délivrer efficacement de l'ARNm dans de multiples types cellulaires, sans induire de forte cytotoxicité et avec des performances ainsi qu'une durée d'expression similaires à celles de la Lipofectamine MessengerMAX™.



**Albert NGALLE-LOTH** (CBM, UPR4301 CNRS Orléans)

*« Biotechnocentre a réuni de nombreux scientifiques de la région Centre-Val de Loire. J'ai pu m'ouvrir aux différentes disciplines régionales via les présentations, posters et les échanges moins formels, possibles pendant les moments de convivialité qui nous sont offerts. Le colloque m'a donné une bonne vision d'ensemble des thématiques traitées dans la région. »*

#### • Prix « Affiche » Filière C

**Évaluation de l'effet d'un biochar d'Eucalyptus sur la mobilité des métaux présents dans un sol minier et leur translocation vers les organes de Casuarina glauca**

La mine de fer de Tamra est de première importance dans le développement économique de la Tunisie. Mais son site d'extraction se caractérise par des fortes concentrations en éléments métalliques (Pb, Mn, Fe, Zn, et Cd), ce qui entraîne des effets néfastes sur l'environnement et la santé humaine.

Afin de réduire ces impacts et favoriser la mise en place d'un couvert végétal, une approche par phytoremédiation assistée à l'aide de biochar est proposée.



Le biochar utilisé provient de la pyrolyse de biomasses ligneuses d'Eucalyptus ; il est caractérisé par un pH alcalin, une grande surface spécifique et une forte teneur en matière organique. Ces propriétés lui confèrent des caractéristiques réductrices qui permettent de fixer les métaux dans le sol.

Dans cette étude, des plantules de Casuarina glauca, plante actinorhizienne capable de former des nodosités fixatrices d'azote au niveau des racines en s'associant à des bactéries filamenteuses du sol du



genre Frankia, ont été cultivées en pots selon trois modalités : (1) en présence du terreau (= contrôle), (2) sur sol minier de Tamra et (3) sur sol minier de Tamra amendé avec du biochar d'Eucalyptus à 5%. Au cours de la première phase expérimentale (six mois), le biochar a eu un effet positif, d'une part, sur l'immobilisation des métaux dans le sol, en particulier le Cd, le Fe et le Zn, en modifiant certaines propriétés physico-chimiques du sol (pH, surface spécifique, teneur en matière organique...), d'autre part, sur la réduction de transfert des métaux, en particulier le Pb et Cd, vers les parties aériennes de Casuarina. En outre, une augmentation d'environ 15% de la biomasse de Casuarina a été enregistrée en présence de biochar.

Cette étude a des implications importantes pour la gestion du site minier de Tamra, mais le suivi prolongé de cette expérience nous permettra de valider les résultats obtenus.



**Oumaima AYADI** (P2E, Université d'Orléans, USC INRAE 1328, Orléans)

*« J'ai trouvé cet événement très intéressant et enrichissant. Les interventions des différents participants étaient de grande qualité et ont permis d'échanger des idées et des perspectives nouvelles. J'ai particulièrement apprécié la diversité des sujets abordés, qui m'ont permis d'élargir mes connaissances. Je tiens à remercier l'équipe d'organisation pour la qualité de la prise en charge des participants et pour l'ambiance conviviale qui a régné tout au long du colloque. »*

#### • Prix « Affiche » Filière D

##### **Les herbicides à base de glyphosate, une menace pour le développement embryonnaire chez la poule ?**

L'utilisation d'herbicides en agriculture représente une menace pour la biodiversité et particulièrement pour les populations d'oiseaux qui connaissent un fort déclin depuis une trentaine d'années. Les herbicides à base de glyphosate (GBH) sont les herbicides les plus utilisés en agriculture dans le monde. Notre objectif est de caractériser les potentiels effets d'une exposition à un GBH sur le développement embryonnaire de la poule. A cette fin nous avons injecté des doses croissantes de GBH dans d'albumen d'œufs au 13<sup>e</sup> jour de leur développement embryonnaire. Quatre jours plus tard, certains des embryons contenu dans ces œufs présentaient des cœurs de masse augmentée. Étonnamment, il s'agissait des embryons issus d'œufs exposés à de faibles doses de GBH (0,03 ng d'équivalent glyphosate/g d'œuf), alors que les œufs exposés à de plus fortes doses



ne présentaient aucune altération. Nous avons également réalisé une manipulation appelée CAM Assay (pour Chorioallantoic Membrane Assay) permettant d'évaluer l'effet du GBH sur la néovascularisation de la membrane chorioallantoïque de l'œuf. Elle consiste en l'ouverture d'une fenêtre dans la coquille de l'œuf afin d'accéder à la membrane chorioallantoïque et d'y déposer une pastille imbibée de GBH. Il est alors possible d'observer le développement des vaisseaux sanguins sous cette pastille, après 72h d'incubation. Encore une fois, seuls les œufs exposés à de faibles doses (1,8 mg d'équivalent glyphosate/L) de GBH présentaient une réduction de la néovascularisation de la membrane chorioallantoïque, alors que les autres œufs ne présentaient aucune altération. La suite de notre travail consistera donc à tenter de comprendre pourquoi seuls les faibles et non les fortes doses de GBH ont des effets néfastes.



**Mathias FREVILLE** (PRC, CNRS-IFCE-INRAE- Université de Tours, Nouzilly)

*« Le colloque de Biotechnocentre offre une belle opportunité de rencontrer les chercheurs et les étudiants de l'école doctorale. Les conférences sont enrichissantes et abordent des sujets variés. Les scientifiques présents travaillent sur des thématiques multiples et savent apporter un œil neuf sur les travaux de chacun. »*

#### • Prix « Affiche » Filière D

##### **A global catalogue of genomes and protein sequences from termite microbiomes**

Advances in whole metagenome shotgun sequencing and associated bioinformatics approaches facilitate environmental studies of microorganisms at both the community and genome levels. Several efforts have been made to centralize information and make it more accessible to microbial ecologists by establishing genome and/or protein catalogues specific to a given environment (e.g., the genomic catalogue of earth's microbiomes, the gene catalogue of the mouse gut). These valuable resources allow a better understanding of the structure, dynamics and functions of microbial communities. In our study, we are interested in the microbiota of termites, which are the most efficient insects to degrade lignocellulose, and are therefore ecologically and economically important. They possess a complex and diverse gut microbial community (Bacteria, Archaea, Eukaryota) that contributes greatly to the lignocellulosic digestion process. To reveal the functional and metabolic potential of this microbial community, we built the



largest resource of microbial genomes associated to termites as well as the related catalogue of proteins. This data set will facilitate genome-centric studies and thus will improve our understanding of these fascinating host-microbiota interactions and their evolutionary dynamics.



**Nachida TADRENT** (UMR 7261, IRBI CNRS-Université de Tours)

« *The 35th biotechnocentre conference was rich in both scientific and human terms. We had quality presentations which allowed us to discover fascinating subjects such as the storage of information on DNA and amazing images obtained using X-ray light. I thank the participants and the committee members for their particular attention during my presentation, as well as Biotechnocentre team and GLYCODIAG for the poster award.* »

#### • Prix « Affiche » Filière E

**Développement d'un linker pégylé ramifié pour contrôler l'hydrophobicité d'un conjugué minibody-MMAE homogène évalué *in vitro* et *in vivo* dans différents modèles de cancer du sein**

Le Kadcyra® (trastuzumab emtansine) a marqué une avancée majeure en tant que premier conjugué anticorps-cytotoxique (ADC ou antibody-drug conjugate) approuvé par la Food and Drug Administration en 2013 pour le traitement des tumeurs solides et contre le cancer du sein HER2+.1 Cependant, malgré les progrès réalisés avec cet ADC de deuxième génération, plusieurs limitations subsistent, telles que son hétérogénéité, son activité limitée contre les tumeurs présentant une expression antigénique hétérogène ou faible, ainsi qu'une pénétration tumorale sub-optimale. Pour pallier ces limitations, diverses stratégies de développement se concentrent sur des technologies de bioconjugaison régiosélective, l'utilisation de nouveaux cytotoxiques, l'optimisation des linkers et/ou l'exploration de formats d'anticorps.

Pour parvenir à des ADCs mieux développés, un paramètre essentiel à prendre en compte est la gestion de l'hydrophobicité liée au linker-drug, qui augmente avec le drug-to-antibody ratio (DAR) de l'ADC et qui limite la valeur de ce dernier dans un ADC. Dans le cadre de cette étude, un linker pégylé innovant a été développé afin de contrôler l'hydrophobicité de la MMAE et de sa gâchette sensible à la cathepsine B. Ce linker pégylé a été utilisé avec succès pour générer un ADC homogène avec un DAR de 8 et un conju-



gué minibody avec un DAR de 4, ciblant HER2. Les deux immunoconjugués ont ensuite été évalués *in vitro* et *in vivo* sur des modèles de cancer du sein HER2 positifs. Cette étude a montré que le conjugué minibody-MMAE avec un DAR de 4 était l'immunoconjugué le plus performant en termes d'internalisation cellulaire *in vitro*, de cytotoxicité, de biodistribution chez les souris et de réduction efficace de la taille des tumeurs *in vivo*. Ces résultats offrent des réflexions intéressantes pour le développement d'ADCs.



**Etienne AUVERT** CEPR, UMR 1100 INSERM, Université de Tours)

« *Le colloque Biotechnocentre est un moment convivial permettant de présenter ses travaux de thèse dans un cadre chaleureux et bienveillant. Beaucoup de conférences de qualité permettent de découvrir les sujets innovants et intéressants de la région.* »

#### • Prix « Pitch »

**Deciphering vacuolar escape and cytosolic hyper-replication : two essentials steps in *Salmonella* pathogenesis**

*Salmonella Typhimurium* is among the top-ranked foodborne pathogen, inducing a wide variety of diseases ranging from gastroenteritis to typhoid fever. It is a facultative intracellular bacterium that actively enters phagocytic and non-phagocytic cells. After host cell invasion, *Salmonella* hijacks the *Salmonella*-containing vacuole (SCV) to multiply moderately. It can also escape the SCV to establish a cytosolic niche leading to hyper-replication. These steps are essential for *Salmonella* multiplication and dissemination *in vivo*. At least two virulence factors are required for the establishment of the cytosolic niche: the outer membrane protein PagN and the type III secretion system 1 (T3SS-1). To date, vacuolar escape and cytosolic hyper-replication occurred only in around 10% of infected cells and have only been described in epithelial cell lines. The aim of this study was to explore *in vitro* the ability of *Salmonella* to escape from its vacuole and to hyper-replicate in the cytosol of all cell types encountered by the bacterium *in vivo*. We used confocal imaging to monitor the infection kinetics and to quantify the subcellular localization of *Salmonella* in different cell lines with a strain of *S. Typhimurium* whose fluorescence differs according to vacuolar or cytosolic survival. Our work shows that *Salmonella* is able to escape from the SCV and to hyper-replicate in the cytosol of others cell types than epithelial cells. Moreover, several cell lines do not allow establishment of the cytosolic niche, although SCVs appear to be desta-

bilized. Furthermore, the role of PagN and T3SS-1 in the process leading to hyper-replication was confirmed and depends on the intracellular context. The identification of the cellular contexts and bacterial actors involved in Salmonella's ability to hyper-replicate is fundamental to characterize the mechanisms of its intracellular evolution and identify the cellular actors favoring Salmonella's dissemination.



**Cassandra LOPATYNSKI** (ISP, UMR1282 INRAE-Université de Tours, Nouisilly)

« Dans un cadre chaleureux et accueillant, le Colloque Biotechnocentre donne l'opportunité d'aborder diverses thématiques de recherche réalisées en région Centre, encourageant les échanges entre doctorants et chercheurs. Cet événement permet d'élargir le réseau professionnel et la perspective scientifique des participants en favorisant les rencontres avec des scientifiques de domaines variés. »

• **Prix « Pitch »**

**La peau de la face chez la poule change de couleur en fonction des situations émotionnelles**

Les changements de couleur de la peau du visage par afflux sanguin sont des marqueurs d'émotions chez l'Homme. Cette capacité des parties de peau dénudées à changer transitoirement de couleur a été décrite chez plusieurs espèces d'oiseaux. Cependant, elle n'a jamais été étudiée dans le cadre des émotions, à l'exception d'une expérience portant sur les interactions positives soigneur-animal chez le Ara bleu (*Ara ararauna*). Dans cette étude, nous avons cherché à savoir si la poule domestique (*Gallus gallus domesticus*) était capable de changer de couleur de peau en fonction du contexte émotionnel dans lequel elle était.

L'étude a porté sur deux races de poules rustiques juvéniles (Pékings n=10, et Meusiennes n=7), maintenues en semi-liberté. Elles ont été filmées dans des situations à valeurs émotionnelles contrastées : situations de calme/contentement (Toilettage, Repos, Mange), situations de plaisir (Bain de poussière, test de Récompense), situations de peur (Alerte, test de Capture). Des images ont été extraites de ces films à partir desquelles le taux de rouge des zones dénudées de la face (crête, barbillon, oreillon, joue) a été mesuré. Quelle que soit la zone, le taux de rouge varie de manière significative en fonction du contexte émotionnel. La joue est la zone où les situations sont le plus nettement dissociées. Pour les poules Meusiennes comme pour les Pékings, la peau est moins rouge dans les situations de calme/contentement que dans les situations de plaisir. Elle est plus rouge dans les situations de peur. Ainsi, le rougissement pourrait

être utilisé pour inférer la manière dont les poules perçoivent leur environnement.



**Delphine SOULET** (PRC, CNRS-IFCE-INRAE- Université de Tours, Nouzilly)

« Le colloque m'a permis de découvrir les thématiques de recherche d'autres laboratoires de la région. J'ai particulièrement apprécié les interventions des conférenciers invités qui ont parlé de sujets très variés. De plus, le cadre très agréable du colloque est propice aux échanges. »

• **Prix « Pitch »**

**Modélisation de l'évolution cognitive dans la maladie d'Alzheimer par apprentissage machine**

La maladie d'Alzheimer entraîne un déclin progressif des capacités cognitives pour plus d'un million de victimes en France. Pour permettre le développement de méthodes de diagnostic précoces et prédictives, de larges banques de données ont été élaborées à travers le monde. Dans ce cadre, des acquisitions multivariées, composées d'imagerie et de données cliniques, ont été réalisées de façon répétée au cours du temps pour plusieurs milliers d'individus. Toutefois, une majorité des méthodes de prédiction n'exploitent pas pleinement la richesse des informations à disposition, tant sur la multimodalité que sur la longitudinalité.

Dans ce contexte, nous avons développé une méthode qui utilise cette information pour prédire l'état cognitif du patient. Dans un premier temps, l'information multivariée est convertie en un score cognitif instantané, puis la trajectoire d'évolution du score est modélisée tout au long de la vie des individus, tant sur plan de la population qu'au niveau individuel. La modélisation par une fonction continue permet alors



la prédiction de l'état cognitif à un instant futur choisi et également le diagnostic associé avec une précision de plus de 88 % à 3 ans.

**Antoine DE MORI** (Ibrain, UMR1253 Inserm-Université de Tours)

• **Prix mobilité européenne**

**Comparaison des propriétés physiologiques de neurones visuels sensibles aux collisions chez le grillon et le criquet**

En enregistrant l'activité neuronale d'un criquet en présence du film Star Wars, les neuroéthologues Claire Rind et Peter Simmons (université de Newcastle) ont remarqué qu'un neurone était particulièrement actif lors des scènes où un vaisseau « volait »

vers l'écran. Cette observation, couplée à des analyses supplémentaires, ont permis de caractériser une propriété clé de ce neurone : il réagit spécifiquement à l'arrivée imminente d'un objet en approche (un danger), comme un prédateur ou un obstacle avec lequel l'insecte s'apprête à rentrer en collision. C'est ce que l'on appelle un looming stimulus. On retrouve des neurones sélectifs au looming chez de nombreuses espèces, des insectes aux humains, qui évaluent le temps restant avant une collision en se basant sur la taille et la vitesse d'expansion de l'objet en approche. Chez le criquet, le neurone LGMD1 (entre autres) réagit au looming et sonne l'alerte. Plusieurs avantages expérimentaux font de ce neurone un modèle pour l'étude de la détection de collision et des calculs dendritiques. Détecter et échapper le plus vite possible à un prédateur, une tâche en apparence simple, pose quelques défis : minimiser les faux négatifs (qui se traduirait par la capture de l'insecte) ainsi que les faux positifs. Les travaux sur le LGMD1 ont conduit à l'implémentation d'algorithmes d'évitement de collision, qui intéressent plusieurs concepteurs automobiles (fabrication de voitures autonomes). Cependant, la connaissance du LGMD1 reste encore partielle. Il a été proposé que les grillons, des insectes de l'ordre des Orthoptères comme les criquets, possèdent un mauvais système visuel, et que la détection des prédateurs ne s'effectuait que par la perception de flux d'air. La comparaison du système de détection visuelle des prédateurs chez un grillon et un criquet permettrait de voir les propriétés computationnelles conservées, et celles qui sont liées à l'écologie. Nous avons conçu un poste d'électrophysiologie et réalisé des enregistrements électrophysiologiques extracellulaires au niveau de la chaîne nerveuse du grillon et du criquet en présence de loomings (vidéos d'expansion de carrés). Nous avons testé différents loomings (différentes vitesses d'expansion, différents contrastes et contrôles) pour caractériser les propriétés de codage. Nos résultats suggèrent la présence de neurones réagissant au looming chez le grillon, mais dont les caractéristiques physiologiques diffèrent avec le cri-

quet. Plusieurs analyses anatomiques (observation de coupes en microscopie électronique et marquage des neurones pour une quantification des ramifications dendritiques) seront nécessaires pour gagner en compréhension dans ce système. Ces résultats auraient des implications en biologie évolutive des systèmes nerveux, et en neurosciences computationnelles.



**Paul CLEMENÇON**  
(IRBI UMR 7261  
CNRS/UT)

*« Grâce au soutien de Biotechnocentre, j'ai pu partir travailler dans le laboratoire du Dr. Claire Rind à Newcastle, où des travaux pionniers sur le système visuel de détection des collisions ont été réalisés. J'ai pu interagir avec des chercheurs passionnés par la neuroéthologie des insectes, un domaine de recherche qui m'intéresse particulièrement. J'ai découvert (et parfois pratiqué) de nouvelles techniques très utilisées dans ce domaine, allant de l'électrophysiologie (enregistrement de l'activité des neurones), à la modélisation de réseaux de neurones, en passant par l'analyse de clichés de microscopie électronique dans un laboratoire avec l'expertise nécessaire. Le séjour m'a permis de me familiariser plus rapidement avec le système visuel des insectes et de pouvoir tester expérimentalement une hypothèse dans le cadre de mon projet de thèse. En résumé, je remercie vivement Biotechnocentre pour m'avoir donné l'opportunité de faire des rencontres, d'apprendre de nouvelles techniques et de voir le fonctionnement d'un laboratoire dans un autre pays. Mon expérience a été très enrichissante sur le plan professionnel et personnel, et j'encourage, si l'opportunité se présente, les doctorant.e.s à déposer leur candidature pour la mobilité internationale Biotechnocentre. »*



## Trois questions à Arthur Woods, chercheur « Le Studium »

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

I am an American insect physiologist whose fascination with insects started more than 35 years ago, as an undergraduate at Stanford University. By chance there, my mentor was Dr. Carol Boggs, who worked on butterfly physiology and ecology. In my third year, I started an honors thesis with her, focusing on life-history flexibility in *Heliconius* butterflies. This early experience led me to apply to do a PhD in the laboratory of Dr. Joel Kingsolver, then at the University of Washington. There I worked on feeding and growth of *Manduca* caterpillars, a topic and species that has remained close to my heart. After doing a postdoc at Arizona State University, with Dr. Jon Harrison, and a five-year lectureship at the University of Texas at Austin, I established a lab

and began to teach at The University Montana in 2006. Most of my projects have focused on physiological mechanisms underlying ecological and evolutionary phenomena and, more recently, that may help predict insect responses to climate change. These projects examine the pervasive effects of temperature on insect biology as well as aspects of gas exchange – how insects take up oxygen and rid themselves of carbon dioxide, all while trying to avoid losing excessive amounts of water.

**LE STUDIUM**  
Loire Valley  
Institute for Advanced Studies

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

I am visiting the laboratory of Prof. Jérôme Casas at the Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, at the Université de Tours. I met Prof. Casas 12 years ago, on a prior visit to Tours to work with Dr. Sylvain Pincebourde. Prof. Casas and I shared an office and, given our common interests in insect physiology, started to discuss new ideas. One of them, about mechanisms of gas exchange by insects, seemed promising but we had to put it on hold to deal with other commitments. Finally, about a year ago, we decided to push it forward, which is the project that the Studium fellowship is now supporting. In brief, we hope to test a fundamentally new idea for how insects drive the transport of respiratory gases inside their bodies.

Like us, insects breathe to obtain oxygen and discard carbon dioxide. Unlike us, insects have no lungs and do not transport oxygen in their blood. Rather, they rely on air-filled tracheal tubes that ramify finely throughout the body

and deliver oxygen directly to almost every cell. Because gas transport occurs in air, it can be extremely rapid – which allows insects to sustain some of the highest known metabolic densities among animals. Starting about 100 years ago, biologists began asking how insects ventilate their tracheal systems. Is it mostly by diffusion or by convection, or both? If it's convection, how do they generate and coordinate flows so that oxygen delivery is matched to metabolic demand? Since then, biologists have found partial answers, with the discovery over the past 50 years of a dazzling array of mechanisms for generating fast, one-way flows. Most known mechanisms rely on different kinds of muscular or whole-body contractions coupled to sophisticated gating of the entrance and exit holes for flow.

In Tours, we are examining a completely different potential mechanism in caterpillars: that they drive one-way gas flows by coupling gas



dynamics to the extreme metabolic rates and acid-base physiology of their guts. Caterpillar guts and their contents make up 30 – 40% of body weight and support high metabolic densities. The metabolic activity supports very high rates of proton and ion pumping, which in turn is used to generate extreme pH gradients. For example, in many species the anterior portion of the gut has pH values of around 11, which then collapse to pH values of 5 or below in the posterior parts of the gut. Our working hypothesis is that high metabolic rates and acid-base

changes result in net absorption of oxygen and carbon dioxide into the gut, with additional passive absorption of nitrogen, all of which creates local areas of low pressure that suck gases toward the gut from elsewhere in the tracheal system. Carbon dioxide is then released posteriorly during acidification and may be recycled anteriorly. We are testing this idea using computer models and by building microfabricated devices out of glass and plastic that allow us to simulate the proposed physicochemical processes in vitro.

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

The Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte is one of the premier groups of insect laboratories in the world. As an American coming from a university system that provides few common resources (most labs operate quite autonomously), I am consistently impressed by the high levels of teamwork and cooperation among laboratories, and by the excellent technical and administrative support that researchers here enjoy. On the specific project with Prof. Casas, I anticipate being ready to write an initial manuscript on our findings later this year, but projects like this always raise additional questions and point the way toward new paths. My hope is to continue developing our ideas and our collaboration over the next few years. Besides providing insight into potentially important new physiological processes occurring in insects, the work also holds the promise of developing new ways of moving fluids within microfabricated and microfluidic devices.

*Propos recueillis par AM & col*



**Arthur WOODS**

*LE STUDIUM Loire Valley Institute for Advanced Studies,*

*UMR 7261, IRBI CNRS  
Université de Tours, Avenue Monge,  
37200 Tours*

## Carlo PIFFERI, un jeune chercheur CNRS talentueux fraîchement recruté au Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), UPR4301, Orléans

Suite à un postdoctorat de plus de 2 ans au CBM dans l'équipe « Protéines de synthèse et chimie bioorthogonale » sur un financement du Programme de recherche et d'innovation Horizon EUROPE de l'Union européenne dans le cadre



de la convention de subvention Marie Skłodowska-Curie (Projet MirrorBody), Carlo Pifferi a été recruté Chargé de recherche CNRS (section 16) en octobre 2023 pour développer son projet de recherche dans l'équipe de Vincent Aucagne. Il vient de recevoir le



soutien du programme PJA1 Jeune Chercheur de l'ARC sur un projet intitulé « Conception de D-protéines synthétiques pour le ciblage moléculaire de glyco-épitopes tumoraux ». Dans cet entretien, il nous explique les motivations qui l'ont conduit à rejoindre un laboratoire de recherche en région Centre-Val de Loire.

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

My name is Carlo Pifferi and I am a newly recruited CNRS researcher in the team of Vincent Aucagne at the Centre for Molecular Biophysics (CBM) in Orléans. I was born in Italy and in 2014 I've obtained a master degree in Pharmaceutical Chemistry from the University of Florence. I then moved to Grenoble for a PhD program in Chemical Biology in the group of Olivier Renaudet. During that period, I've focused my efforts to develop new synthetic strategies to access multivalently glycosylated macromolecules as tools for biomedical applications. My early scientific interest in "crafting complex macromolecules" has steadily matured towards the need to apply such expertise in a biological context. Therefore, in 2018 I've joined the team of Alberto Fernandez-Tejada at the bioGUNE institute in the Basque Country to work at the interface between Chemistry and Immuno-

logy. Here I had the opportunity to perform both the chemical synthesis and the immunological evaluation of synthetic vaccines and adjuvants in mouse models. I am very thankful for the mentorship that Juan Anguita (bioGUNE) provided me with, which is reflected by how the field of immunology has an important role in the research axis that I want to develop. After a 3-year postdoc in bioGUNE, I have joined the team of Vincent Aucagne at the CBM (Orléans) for my second postdoc. Here I've obtained additional training in chemical synthesis of proteins, another key aspect of my research, and expanded my competences in protein conjugation methodologies. Although the more recurrent discipline along my academic path is Chemistry, my true interest is at the interface between Chemistry and Biology.

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

Becoming a CNRS researcher has been my career goal ever since my doctoral studies in Grenoble, for many reasons. First of all, I have really enjoyed the three years of my PhD, I've enjoyed

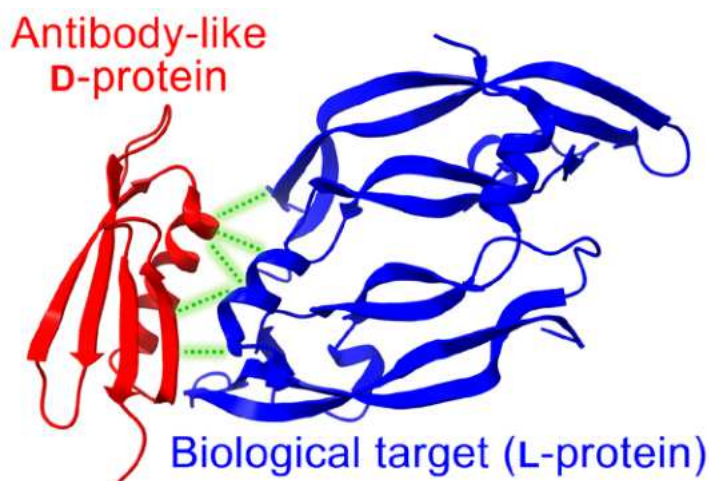
pretty much every aspect that a foreigner student could be confronted to when moving alone in another country. Such a great experience has left an indelible mark in me. From the professional

point of view, I have always regarded the CNRS as a prestigious public institution, a breeding ground where fundamental research could be carried out with freedom. A crucial point for me, was also the fact that differently from a University position, as a CNRS scientist I would have been able to dedicate 100% of my time to research. During the end of my first postdoc I was looking for a research group in France to gain additional expertise in the field of Chemical Biology for biomacromolecules, with the aim to apply for a CNRS position. From a scientific perspective, the research group of Vincent Aucagne was my first choice: an interdisciplinary team with a sharp expertise in protein chemical synthesis and molecular biology. I was very happy to be accepted in his group, and my expectations turned out to be more than fulfilled. I felt valued and accepted from the beginning, and learned more than I could hope. After only a few months spent in the group, I realized that

it was the place that I was looking for to “grow” as a scientist. I was also very enthusiastic about CBM’s interdisciplinary spirit, with competent researchers and engineers in physics, chemistry and biology, and a highly-variegated array of instrumentation to interrogate the biological fate of biomacromolecules from the *in vivo* to the atomic level. On the top of the many reasons above, which fueled my motivation, the circumstances that led me to my current position have also been decisively dependent on the huge amount of help and support that I’ve received for my CNRS candidature. Most importantly from Vincent Aucagne, but also from many other colleagues from the CBM (I wish I could name them all!), which have been always available to help me with precious insights. The combination of high-quality science and supportive environment has been fundamental for me to choose to invest my future career at the CBM.

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

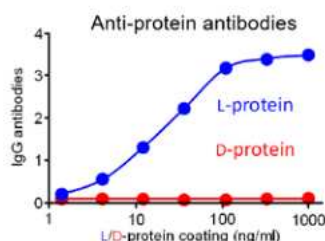
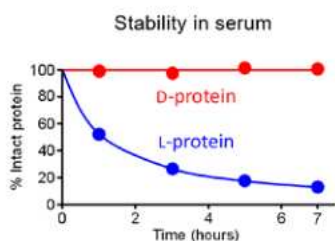
The main axis of research that I wish to develop at CBM aims to conceive a new generation of therapeutic proteins which are entirely made by chemical synthesis, and that we could call “chemical biologics”. Antibody-like small proteins can comparably perform as antibodies in terms of binding affinity and specificity, while having the advantage of a smaller size that makes their production easier (they are devoid of post-translational modifications and can be produced by recombinant, as well as synthetic chemistry means) and also improves their distribution *in vivo*; nevertheless, small proteins are more subjected to inactivation by proteolysis, which is not the case for antibodies. A shared issue that is associated with all therapeutic proteins (even fully-human antibodies) upon their administration in living organisms is their immunogenic potential. That is the



tendency to trigger an unwanted immune response against themselves, which can lead to the inactivation of the therapeutic protein, for example by elicitation of anti-drug-antibodies, but also induce life-threatening side-effects.

My aim is to push forward the current limits of antibody-like small proteins by exploiting D-proteins as new tools for biomedicine. D-proteins are entirely composed of D-amino acids (and achiral glycine) which are nearly absent in living organisms, and can only be obtained through chemical synthesis. Their first unique advantage relies on their extreme resistance to proteases, which tremendously extends their serum half-lives, allowing them to exert their function for an extended period of time. Their second, key advantage, is their extremely low immunogenic potential. These two observations have been reported and discussed





together already in the late 1960s - early 1970s, by seminal studies conducted by Michael Sela and co-workers (one of the fathers of “Immunological Chemistry”). The current landscape in D-proteins as antibody-like tools accounts for only a few examples in the literature, all stemming from collaborative projects between two world-renowned research groups (Stephen Kent, for protein chemical synthesis, and Sachdev Sidhu, for therapeutic antibody development), and all binding the same target (the vascular epithelial growing factor A). When approaching such an underexplored field, a first aspect to be considered is the need for a double expertise in protein chemical synthesis and ligand discovery. While the field of protein chemical synthesis have tremendously progressed, making relatively easy to obtain proteins made of 150 amino acid residues, the real bottleneck is the need for a new discovery process for D-proteins as tools for molecular targeting. This last aspect is the focus of the main research axis that I wish to undertake, in which we propose a new, combined approach (synthetic chemistry + molecular biology + immunology) for the discovery of D-proteins as affinity ligands towards a diverse array of biological targets. This highly-interdisciplinary endeavor is perfectly adapted to be carried out at the CBM, from the proof of concept to the first applications

in mouse models, which is also one the things that excites me the most. From the broader perspective of the Centre-Val de Loire region, I think that the translational potential of working with therapeutic proteins, combined with the impact that can arise from the successful development of a new generation of “chemical biologics” with reduced immunogenic potential can result in exciting collaborations with neighboring institutes, for both fundamental and applied research projects.



**Carlo Pifferi**

Centre de Biophysique Moléculaire,  
UPR4301 CNRS,  
rue Charles Sadron,  
45 071 Orléans cedex 02  
Mèl : [carlo.pifferi@cns-orleans.fr](mailto:carlo.pifferi@cns-orleans.fr)  
Tel : 02 38 25 51 08



**Carlo Pifferi vient de passer son entretien oral en dernière phase du concours ERC-Starting Grant 2024. Nous lui souhaitons plein de suc-cès. L'arrivée du Dr Carlo Pifferi dans un laboratoire CNRS à Orléans témoigne à n'en pas douter du dynamisme et de l'attractivité de la recherche en région Centre-Val de Loire.**

*Propos recueillis par B.C.*

# Les LIM kinases, des kinases pas comme les autres

Le devenir de la cellule et donc de tout organisme est orchestré par des voies de signalisation cellulaires interconnectées et finement régulées. Les protéines kinases jouent un rôle clé dans ces processus et sont au cœur de vastes réseaux d'activation, de répression et de mécanismes de rétro-contrôle. Les kinases sont donc des cibles thérapeutiques de grand intérêt de par leur rôle crucial dans la régulation de multiples phénomènes physiologiques mais aussi pathologiques. De nombreuses stratégies visant à moduler pharmacologiquement l'activité des kinases ont été développées dans le but de mettre au point de nouvelles thérapies. Ainsi la plupart des agents de chimiothérapie visent à inhiber des kinases qui sont suractivées dans des cancers.



Depuis quelques années, nous nous intéressons à une famille de kinases atypiques, les LIM kinases ou encore LIMKs. Dans cet article, je vais vous relater comment nos recherches nous ont entraînés sur la piste des LIMKs. Qui sont-elles ? Pourquoi sont-elles atypiques ? Ensuite, nous explorerons les différentes thématiques de recherche développées dans l'équipe autour des LIMKs et tout particulièrement le développement de nouveaux inhibiteurs petites molécules en collaboration avec des chimistes de l'ICOA, l'étude moléculaire de leur régulation, et d'autres projets qui ouvrent de nouvelles perspectives.

## 1. Signalisation cellulaire et Neurofibromatose

Initialement, nos recherches portaient sur l'étude de voies de signalisation cellulaire chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, l'une d'entre elles impliquant les gènes *IRA1* et *IRA2*, homologues au gène *NF1* muté dans une maladie génétique, la Neurofibromatose de type I. Progressivement, nos recherches se sont réorientées et concentrées sur la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans l'apparition et le développement de cette pathologie. La Neurofibromatose de type I, *NF1*, ou maladie de von Recklinghausen, est une maladie génétique autosomale dominante très fréquente, puisqu'elle touche 1 individu sur 3500.

Ses manifestations cliniques sont nombreuses, allant de formes bénignes à des formes plus graves voire mortelles, avec entre autre des taches café au lait, des neurofibromes cutanés, des gliomes, des tumeurs cérébrales, des déformations squelettiques, des troubles cognitifs et des neurofibromes plexiformes pouvant dégénérer en cancers très invasifs dont l'issue est fatale [1]. Actuellement, il n'existe pas de traitement de cette maladie hormis le Sélumétinib (un inhibiteur de la kinase MEK) prescrit uniquement pour les neurofibromes plexiformes inopérables chez les enfants, mais qui n'est efficace que dans 70 % des cas. Il est donc vital

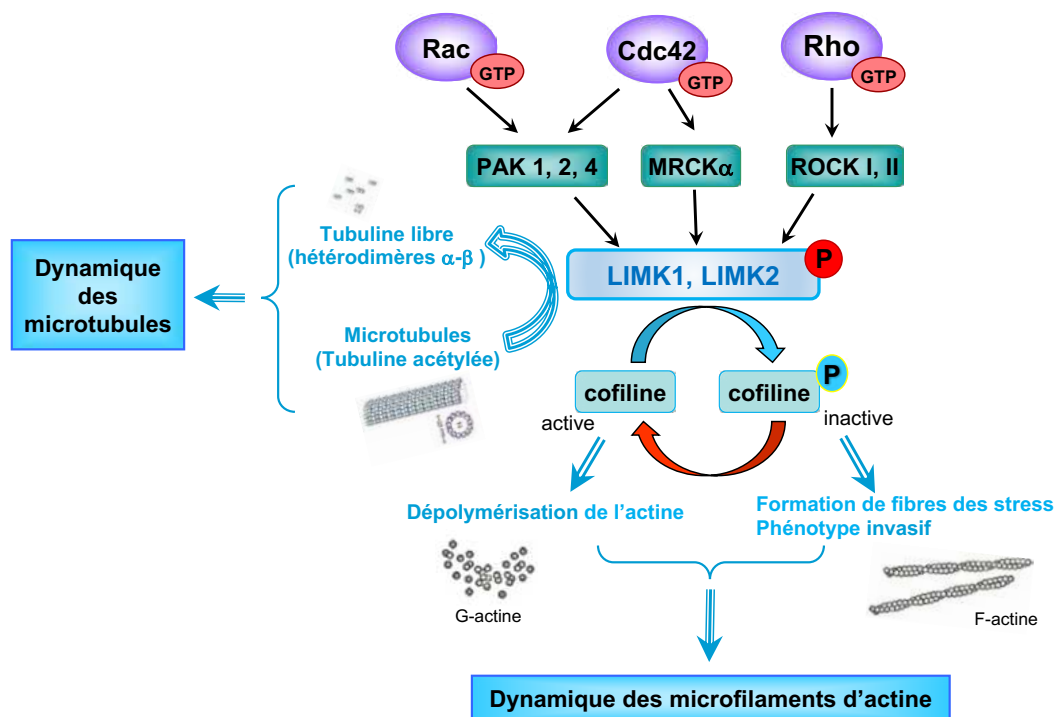


Figure 1 : Voies de signalisation cellulaire reliant les LIMKs à la dynamique du cytosquelette

de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour lutter contre cette maladie. Notre approche visant à mieux comprendre au niveau moléculaire les mécanismes à l'origine de cette maladie était particulièrement originale puisque la plupart des groupes dans le monde travaillant sur la NF1 s'intéressaient aux relations génotype/phénotype et à la seule fonction alors connue de la neurofibromine, protéine codée par le gène NF1, qui était d'inhiber la petite protéine G Ras.

## 2. Les LIM kinases, LIMK1 et LIMK2

LIMK1 et LIMK2 sont les deux uniques membres de la famille des LIM kinases, elles partagent 50 % identité. Découvertes respectivement en 1994 et 1995, les LIMKs se caractérisent en leur extrémité N-terminale par deux domaines LIM formés chacun d'un double



Figure 2 : Rôles physiologiques des LIMKs

doigt de zinc et en leur extrémité C-terminale d'un domaine kinase possédant une activité duale, i.e. pouvant phosphoryler des Serine et Thréonine mais aussi des Tyrosine. Très vite, leur implication dans le remodelage du cytosquelette a été mise à jour et les voies de signalisation cellulaire impliquées dans ces processus identifiées. Les LIMKs sont régulées par les petites protéines G, RhoA, Rac1 et CDC42, via l'intermédiaire des kinases, PAK1/2/4, MRCK $\alpha$  et ROCK1/II. Ces dernières phosphorylent LIMK1 sur sa Thr508 et LIMK2 sur sa Thr505 conduisant ainsi à son activation. Les LIMKs vont alors phosphoryler la cofiline, un facteur de dépolymérisation de l'actine, ce qui va l'inhiber. La cofiline

Mais cette fonction moléculaire ne pouvait pas expliquer tous les phénotypes observés.

Pour mener à bien nos études, nous avons recherché de façon systématique, par un crible double hybride dans la levure, les partenaires de la neurofibromine. Nous avons ainsi mis à jour plusieurs nouveaux partenaires de Nf1 et je m'intéresse tout particulièrement à l'un d'entre eux, LIMK2.

ne peut alors plus dépolymériser les filaments d'actine et on observe l'accumulation de fibres de stress dans la cellule, on parle de phénotype invasif. Les LIMKs sont aussi impliquées dans le remaniement des microtubules, mais les mécanismes moléculaires associés à ce processus restent inconnus à ce jour (Figure 1). Par ailleurs, au fil des années, de nombreux partenaires des LIMKs ont été identifiés, les positionnant au cœur de multiples voies de signalisation cellulaire [2].

De par leur implication dans le remaniement du cytosquelette, les LIMKs jouent un rôle clé dans de nombreux phénomènes physiologiques comme la mobilité cellulaire, la division, la différenciation, l'apoptose, l'endocytose, le trafic intracellulaire et la plasticité neuronale (Figure 2). Lorsqu'elles sont dérégulées, leur implication dans de nombreuses pathologies a été démontrée, en particulier dans les cancers du sein, de la prostate, des os, les glioblastomes, les leucémies, les maladies neuronales telles Parkinson, Alzheimer, la schizophrénie, les infections virales et aussi les Neurofibromatoses de type I et II [2] (Figure 3).

D'ailleurs, quel lien avons-nous mis à jour entre les LIMKs et la NF1 ?

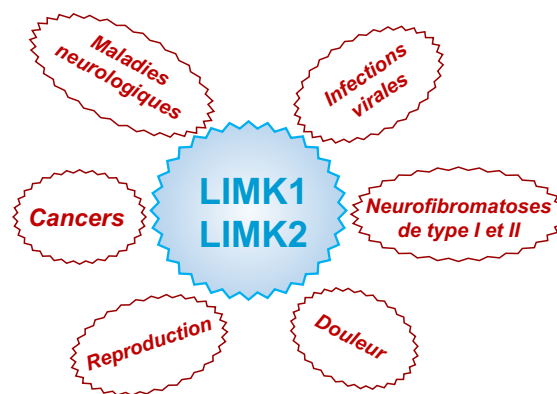


Figure 3 : Pathologies dans lesquelles les LIMKs sont impliquées

## 3. Les LIMKs et NF1

Grâce au crible double-hybride que nous avons réalisé, nous avons mis à jour LIMK2 comme nouveau partenaire de Nf1 [3]. Quelques années auparavant, une autre équipe avait démontré l'implication de Nf1 dans la régulation de LIMK1 [4]. Dans notre étude, nous avons pu décrypter les mécanismes moléculaires

précis de régulation entre LIMK2 et Nf1. Nous avons montré que LIMK2 interagit avec Nf1 via la technique classique de co-immunoprécipitation et nous avons identifié les domaines de LIMK2 impliqués dans cette interaction. Nous avons mis en évidence qu'en présence de Nf1, LIMK2 phosphoryle de façon bien moins

efficace la cofiline, ce qui conduit à une diminution des fibres de stress d'actine induites par LIMK2. Finalement, nous avons démontré que Nf1 empêche l'activation de LIMK2 par ROCK : en effet, en présence de Nf1, la phosphorylation de LIMK2 sur sa Thr505 est drastiquement réduite [3]. Ces résultats sont en parfait

accord avec des données de la littérature observant une activation de la voie des LIMKs lorsque Nf1 est mutée [4]. Ils ouvrent aussi la voie vers une nouvelle approche thérapeutique de la NF1, en inhibant les LIMKs chez les patients atteints de Neurofibromatose de type I.

#### 4. Développement d'inhibiteurs petites molécules des LIMKs

Inhiber les LIMKs est donc une nouvelle approche thérapeutique séduisante pour traiter la NF1. Mais cette approche peut s'appliquer pour d'autres pathologies, en particulier les cancers puisqu'il a été mis en évidence une surexpression et suractivation des LIMKs dans de nombreux cancers [2]. Depuis 2008, de nombreux inhibiteurs petites molécules ciblant les LIMKs ont été développés. Certains sont très efficaces in vitro et ont été testés in vivo sur différents modèles murins, en particulier les cancers du sein, du pancréas, la leucémie, la schizophrénie et le glaucome. Ces essais ont été très concluants avec une diminution de la taille des tumeurs pour les cancers du sein et du pancréas, une survie pour les souris atteintes de leucémie, une restauration de l'interaction sociale pour les souris atteintes de schizophrénie et une diminution de la pression oculaire pour le glaucome. Cependant, aucune de ces molécules n'a franchi avec succès le cap des essais cliniques [5]. Nous avons donc décidé d'élaborer de nouveaux inhibiteurs sélectifs des LIMKs dans une optique de recherche translationnelle. Pour cela, nous avons développé une collaboration étroite avec les équipes de l'ICOA de chimie médicinale de Sylvain Routier et Karen Plé et de chimoinformatique de Pascal Bonnet et Samia Aci-Sèche. Une librairie de plus de 200 composés a été élaborée grâce au savoir-faire des chimistes synthétisant des squelettes originaux en étant guidés par les conseils avisés des modélisateurs. Au fil des divers contrats obtenus, les différentes ingénieures contractuelles, Aurélie Tchalikian, Justine Corret, Caroline Girardin et Amandine Serrano se sont succédées et ont réalisé la caractérisation biologique de ces molécules. Certaines d'entre elles ont une activité in vitro de l'ordre du nanoMolaire et sont très actives in cellulo sur différentes lignées cellulaires. On observe une forte diminution de la phosphorylation de la cofiline par les LIMKs et un fort impact sur la dynamique du cytosquelette et la migration des cellules. Des structures cristallographiques de complexes entre les LIMKs et certains inhibiteurs ont été résolues grâce à la collaboration avec l'équipe de Stefan Knapp et Sebastian Mathea du Structural Genomics Consortium au Bushmann Institute for Molecular Life Science à la Goethe Université de Francfort, apportant des données cruciales pour l'élaboration de nouveaux inhibiteurs toujours en collaboration avec l'équipe de chimistes de l'ICOA [6, 7]. Nous avons aussi pu réaliser des tests in vivo sur différents modèles murins de pathologies grâce à plusieurs collaborations (Figure 4). Ainsi, avec l'équipe de Patrick Vourc'h et Christian Andres de l'unité INSERM

U1253-iBrain à Tours, nous avons testé une molécule sur un modèle murin de Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) plus connue sous le nom de maladie de Charcot. La SLA est une maladie dégénérative affectant les motoneurones et conduisant à leur destruction progressive, ce qui entraîne une paralysie progressive. La survie moyenne des patients est de 3 à 4 ans après l'apparition des symptômes et il n'existe que deux traitements palliatifs contre cette maladie. La molécule que nous avons testée ne conduit pas à une augmentation de l'espérance de vie des souris, cependant elle retarde l'apparition des manifestations de la maladie ce qui est un résultat très encourageant. Avec l'équipe de Franck Verrecchia de l'unité INSERM U1307/CNRS U6075 au CRCI2NA à Nantes, nous avons testé une autre molécule sur un modèle murin d'ostéosarcome. L'ostéosarcome est un cancer des os qui touche principalement les enfants et les adolescents. Le traitement classique est la chimiothérapie et la chirurgie. La survie à 5 ans est estimée à 20 % en cas de résistance à la chimiothérapie ou d'apparition de métastases. Les traitements ont peu évolué au cours de ces 40 dernières années. La molécule que nous avons testée a conduit à une réduction de 45 % de la taille des tumeurs, ce qui est très prometteur. Enfin, avec l'équipe de Piotr Topilko du CHU Henri-Mondor à Créteil, nous avons testé une troisième molécule sur un modèle murin de NF1, qui a été développé par cette équipe et est le seul à reproduire tous les phénotypes humains de la pathologie. Une diminution significative de la surface des neurofibromes cutanés a été observée. Ces études sont encore en cours mais ces premiers résultats sont enthousiasmants car à ce jour aucune molécule n'a permis d'obtenir ces résultats. L'étude des effets potentiels de nos inhibiteurs sur le glioblastome est aussi envisagée en collaboration avec Pierre-François Cartron de l'unité INSERM U1232 au CRCI2NA à Nantes. Le glioblastome est le cancer

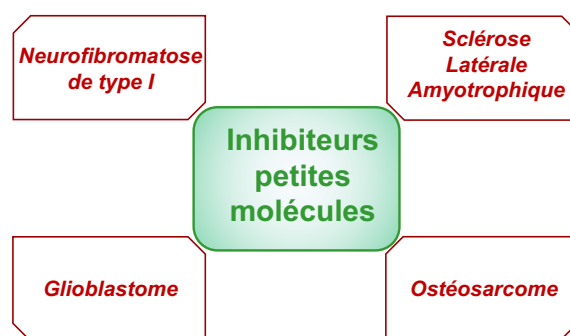


Figure 4 : Pathologies ciblées dans nos études de développement d'inhibiteurs petites molécules

cérébral le plus fréquent, il est particulièrement invasif et son pronostic est très sombre avec 15 mois de survie post-diagnostic. Nous sommes actuellement au stade des essais sur lignées cellulaires de glioblastome pour choisir les molécules les plus actives.

## 5. Étude de la régulation des LIMKs

En parallèle de ces recherches appliquées, nous menons une recherche plus fondamentale visant à mieux comprendre le fonctionnement et la régulation des LIMKs. Mieux comprendre pour mieux interférer sur leur activité.

Notre étudiante en thèse, Elodie Villalonga-Rosso, a pu mettre à jour un nouveau mécanisme de régulation des LIMKs très original et novateur.

Des études précédentes réalisées par des étudiantes en M2, Déborah Cassas et Céline Chalal, avaient montré que l'extrémité C-terminale de LIMK2 est requise pour son activité kinase sur la cofiline. Elodie a démontré qu'un seul acide aminé, pourtant éloigné du site actif, pouvait moduler cette activité : la Tyrosine 630 pour LIMK2, homologue à la Tyrosine 632 chez LIMK1. En effet, lorsque cette Tyrosine est mutée en Alanine, les LIMKs ne sont plus capables de phosphoryler la cofiline, elles n'induisent plus la formation de fibres de stress. Cependant, elles sont toujours capables d'interagir avec leur substrat, la cofiline, et avec leur kinase activatrice en amont de la voie (ROCK). Par contre, les LIMKs sont drastiquement moins phosphorylées sur leur Thréonine activatrice (Thréonine 505 pour LIMK2, Thréonine 508 pour LIMK1). De façon inattendue, lorsque cette Tyrosine 630 pour LIMK2 ou Tyrosine 632 pour LIMK1 est mutée en Phénylalanine, un acide aminé dont la structure est très proche de celle de la

Ces différents essais précliniques sont extrêmement prometteurs et ouvrent la voie à de nouvelles perspectives thérapeutiques innovantes et excitantes ciblant les LIMKs.

Tyrosine par la présence du noyau aromatique, une restauration quasi-totale est observée tant au niveau de l'activité des LIMKs sur la phosphorylation de la cofiline, que de leur activation par ROCK. Des études conformationnelles basées sur les différentes structures présentes dans la PDB (Protein Data Bank) ont été réalisées par Samia Aci-Sèche (ICOA) et ont montré que ces Tyrosine adoptent deux conformations bien distinctes par rapport à l'hélice  $\alpha$  sur laquelle elles sont situées et que cette position est corrélée à celle d'une autre hélice, l'hélice  $\alpha$ -C, un élément structural clé régulant l'équilibre entre les formes active et inactive des kinases LIMKs. Finalement, Elodie a montré que ces Tyrosine sont responsables de la dimérisation des LIMKs, médiant leur transphosphorylation et impactant leur stabilité (article en cours de rédaction) (Figure 5).

L'ensemble de ces résultats constitue des données extrêmement novatrices et prometteuses. Elles mettent à jour un nouveau mécanisme de régulation des LIMKs dans lequel un acide aminé éloigné structurellement du site actif des LIMKs joue un rôle crucial dans la régulation de leur activité.

Très récemment, l'équipe de Titus Boggon, cristallographe qui a résolu plusieurs structures des LIMKs, a montré que d'autres acides aminés éloignés du site actif des LIMKs jouaient aussi un rôle clé dans la régulation de l'activité de ces kinases [8].

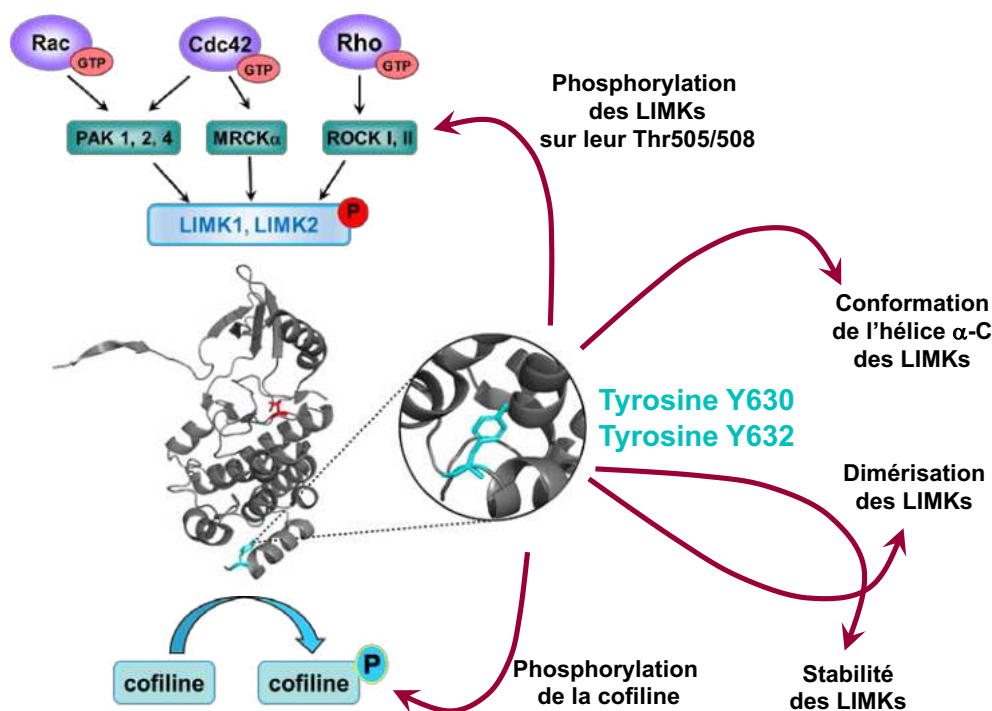


Figure 5 : Mise en évidence d'un nouveau processus de régulation des LIMKs petites molécules

Il est donc vital de mieux comprendre le rôle de ces acides aminés pour pouvoir concevoir de nouvelles approches thérapeutiques ciblant ces kinases.

## 6. Perspectives

D'ailleurs, nous commençons à développer un tout nouveau projet basé sur des résultats de structures cristallographiques [9] visant à développer de nouveaux inhibiteurs qui empêcheraient l'interaction entre les LIMKs et la cofiline (Protein/Protein Interaction disruption strategy). Nous sommes en attente de la réponse d'un financement ANR... si le retour est positif, ce sera l'occasion d'un prochain article dans la lettre de Biotechnocentre !

En collaboration avec les chimistes de l'ICOA qui ont synthétisé la librairie d'inhibiteurs des LIMKs, nous voulons aller plus loin et utiliser les meilleurs candidats pour développer des PROTACs. Les PROTACs sont des molécules trifonctionnelles dont une première partie se lie à la cible d'intérêt (dans notre cas les LIMKs), la deuxième partie est un « linker » qui peut être de différentes longueurs et natures chimiques, enfin la troisième partie est un ligand d'une ubiquitine ligase. Le but d'un PROTAC est de se lier simultanément à sa cible d'intérêt et à l'ubiquitine ligase choisie, créant ainsi une proximité entre ces deux protéines qui va conduire à l'ubiquitination de la cible d'intérêt et à sa dégradation par le protéasome. On parle alors d'inhibition de la cible d'intérêt par dégradation chimique de cette dernière. Actuellement, nous avons testé cinq PROTACs ciblant les LIMKs. L'un d'entre eux est particulièrement efficace et dégrade quasiment à 100% LIMK1 et LIMK2, conduisant à une diminution drastique du taux de cofiline phosphorylée et ayant un impact marqué sur la dynamique du cytosquelette. Des études complémentaires sont en cours.

Par ailleurs, nous voulons poursuivre nos études moléculaires sur la régulation des LIMKs. Et tout particulièrement mettre à jour le ou les mécanismes moléculaires par lesquels les LIMKs régulent les microtubules... C'est le sujet d'Audrey Roussel qui a commencé sa thèse en octobre dernier... Nous vous en parlerons dans une prochaine lettre de Biotechnocentre quand nous aurons de beaux résultats !

Si vous avez des questions, ou des suggestions sur nos travaux, n'hésitez pas à nous contacter.

Et puis, vous pouvez venir nous voir à la Fête de la Science les 5 et 6 octobre prochains. Nous organisons des visites de nos labos et expliquons nos travaux de recherche.

À bientôt !

*Nous remercions tous nos financeurs : le CNRS, l'université d'Orléans, La Ligue contre le cancer (Comités 45, 41, 37 et 56), l'association Neurofibromatose et Recklinghausen, la Région Centre-Val de Loire, l'ANR, l'ARSLA, C-Valo.*

*Nous remercions nos collaborateurs : Sylvain Routier et Karen Plé (ICOA, Orléans), Pascal Bonnet et Samia Aci-Sèche (ICOA, Orléans), Patrick Vourc'h et Christian Andres (iBrain, Tours), Franck Verrecchia (CRCI2NA, Nantes), Piotr Topilko (CHU Henri-Mondor, Créteil), Pierre-François Cartron (CRCI2NA, Nantes).*

### Références

- [1] Gutmann et al., 2017, Nature Reviews Disease Primers, 3:17004. doi: 10.1038/nrdp.2017.4.
- [2] Villalonga et al., 2023, Cells, 12(5):805. doi: 10.3390/cells12050805.
- [3] Vallée et al., 2012, PLoS One, 7(10):e47283. doi: 10.1371/journal.pone.0047283.
- [4] Starinsky-Elbaz et al., 2009, Mol Cell Neuroscience, 42(4):278-87. doi: 10.1016/j.mcn.2009.07.014.
- [5] Berabez et al., 2022, Cells, 11(13):2090. doi: 10.3390/cells11132090.
- [6] Champiré et al., 2024, Eur J Med Chem, 271:116391. doi: 10.1016/j.ejmech.2024.116391
- [7] 2021/12: Brevet international WO2021/239727 A1.
- [8] Casanova-Sepúlveda et al., 2023, Nat Com, 14(1):8441. doi: 10.1038/s41467-023-44148-4
- [9] Hamill et al., 2016, Mol Cell, 62(3):397-408. doi: 10.1016/j.molcel.2016.04.001.



**Contact : Béatrice Vallée-Méheust**

[beatrice.vallee@cns.fr](mailto:beatrice.vallee@cns.fr)

Co-responsable de l'équipe Signalisation Cellulaire et Neurofibromatose avec Hélène Bénédicti au CBM, UPR4301, CNRS Orléans

Membres de l'équipe :

Hélène Bénédicti, Michel Doudeau, Fabienne Godin, Christine Mosrin-Huaman, Thierry Normand, Audrey Roussel, Amandine Serrano, Béatrice Vallée, Elodie Villalonga-Rosso

Alumni qui ont contribué aux travaux décrits dans cet article

Déborah Cassas, Céline Chalal, Justine Corret, Caroline Girardin, Aurélie Tchalikian

## La plateforme SALSA : Synthèse et Analyse pour La Santé, l'Agronomie et le bien-être

Par David Da Silva et Cyril Colas



L'Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA), Unité Mixte de Recherche (UMR 7311) sous la co-tutelle de l'Université d'Orléans et du CNRS, dirigé par le Pr. Sylvain Rouzier, est un acteur académique majeur en Région Centre-Val de Loire, notamment autour des thématiques orientées vers la conception,



la synthèse et l'analyse de molécules dans le domaine du vivant. Cofondateur des Labex SynOrg et IRON, de la Chimiothèque Nationale, l'ICOA est également membre de l'Infrastructure de Recherche ChemBioFrance. L'Institut entretient des relations soutenues avec de nombreux partenaires académiques et industriels et est membre de réseaux structurants régionaux et nationaux tels que CosmétoSciences, Biomédicaments, Cancéropôle Grand Ouest et de nombreux GDR CNRS (<https://www.icoa.fr/>).

### Labellisation IBiSA

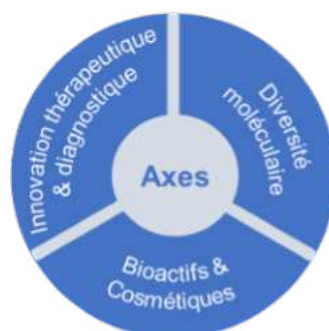
Depuis plusieurs années, l'ICOA a pour volonté d'instaurer une **démarche qualité** dans ses locaux et notamment sur ses plateformes de recherche et de services (Plateforme de Synthèse, Service RMN, Plateforme des Techniques Analytiques et Plateforme HRMS (FR2708)), qui se sont regroupées en 2021 pour former **la plateforme SALSA** (Synthèse et Analyse pour La Santé, l'Agronomie et le bien-être). SALSA a candidaté à l'appel d'offres Plateformes 2022 et obtenu le **label du GIS IBiSA** (Groupement d'Intérêt Scientifique, Infrastructures en Biologie Santé et Agronomie) **fin 2022**, gage de reconnaissance pour les utilisateurs, dans la thématique « **criblage et chimiothèque** ».



### Offre de service

La plateforme SALSA propose une offre de service unique en région Centre-Val de Loire grâce à ses 3 domaines d'activités complémentaires :

- **Synthèse organique** : obtention de références et standards, scale-up jusqu'à 100 g et RMN (400 MHz).
- **Techniques analytiques** : chromatographie (achirale et



chirale), spectroscopies et purification.

- **Caractérisation par HRMS** (FR2708) : de petites et moyennes molécules, synthétiques ou naturelles, et analyse d'anticorps (ADC).

La plateforme SALSA fédère 14 personnes (4 Maîtres de Conférences, 1 Chargé de Recherche, 2 Ingénieurs de Recherche, 2 Ingénieurs d'Études, 4 Assistants

Ingénieur, 1 Technicienne) représentant 5,1 ETP (Equivalent Temps Plein), ce qui lui permet de répondre spécifiquement, sur un seul site, aux besoins des utilisateurs internes et externes, tant académiques qu'industriels, sous forme de prestations de service, de collaborations de recherche ou bien de partenariats. Elle propose des solutions technologiques pour la synthèse et l'analyse de molécules en utilisant des ressources variées, des méthodes originales et des

technologies analytiques de pointe au travers de capacités en extraction, techniques séparatives, spectroscopiques et spectrométrie de masse, **dans le domaine du vivant** et plus particulièrement en **santé, agronomie et bien-être**.

Selon la convenance de l'utilisateur, l'accès à la plateforme est possible de manière directe ou indirecte, avec un accompagnement / conseil du personnel permanent (réfèrent/expert).

## 1. Application Bioactifs et Cosmétique. Valorisation de plantes et co-produits via l'analyse d'extraits complexes : caractérisation et identification de molécules bioactives.

De par la transversalité de ses techniques, la plateforme SALSA offre des services allant de l'extraction de plantes, au criblage d'activité in-tubo (en plaques 96 puits avec lecture par UV-visible ou fluorescence), via la caractérisation des métabolites primaires (sucres, acides aminés) et spécialisés (acides phénoliques, flavonoïdes, terpènes, alcaloïdes) de ces mélanges complexes par spectrométrie de masse basse et haute résolution (MS, HRMS). En vue d'explorer la diversité moléculaire des échantillons, les spectromètres de masse peuvent être couplés à diverses techniques séparatives (UHPLC, SFC, CE, TLC) et sources d'ionisation (ESI, APCI et APPI). Afin de compléter ces analyses, une étape de fractionnement/purification (Flash chromatographie, HPLC ou SFC préparatives) peut être réalisée afin de permettre des études de caractérisation complémentaires par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) 1D et 2D sur les molécules d'intérêt.

Ainsi, ces analyses peuvent être effectuées dans le cadre de diverses problématiques :

- Comparaison d'extraits de plantes (espèces, organes, conditions de cultures, localisation) à travers des analyses métabolomiques ciblées ou non ciblées (PCA, PLS-DA...) par (HR)MS couplée à un système chromatographique.
- Étude des réponses chimiques en lien à des interactions entre des espèces vivantes (animales, végétales), appelée également l'écologie chimique.
- Identification des métabolites (primaires et spécialisés) issus des extraits de plantes (par dérégulation, réseaux moléculaires) par (HR)MS/MS (spectres de fragmentation).
- Criblage de l'activité des extraits de plantes (polaires-apolaires) sur des enzymes (tyrosinase, collagénase, élastase, hyaluronidase, lipases...) in-tubo par spectrophotométrie et thermophorèse à micro-échelle.
- Évaluation de relations « structure-activité ».

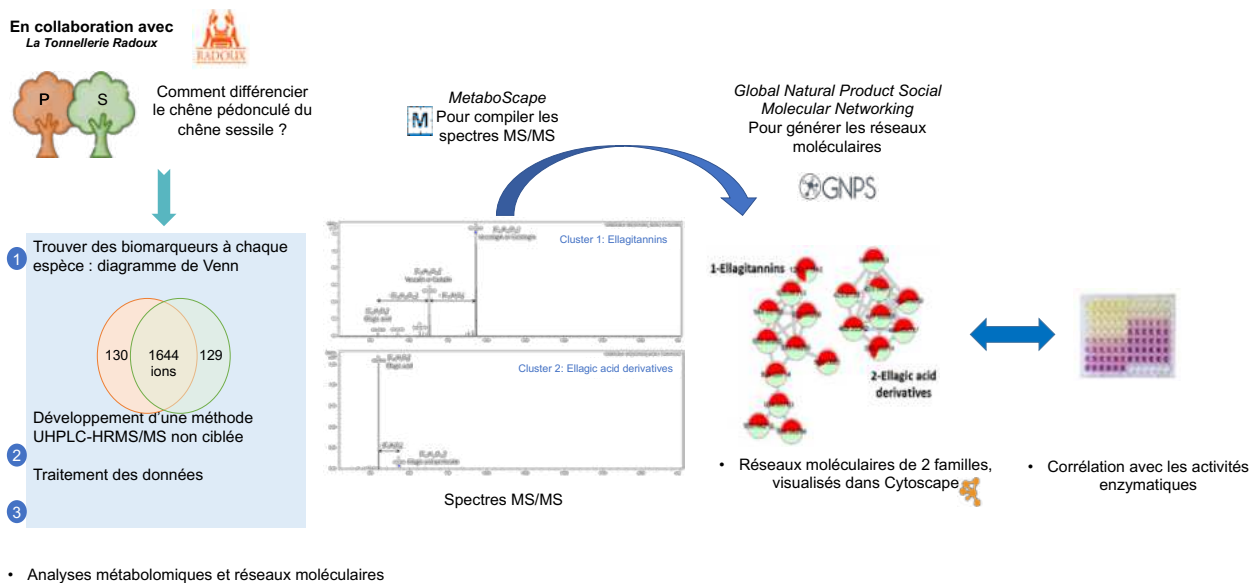
Parmi les techniques indispensables pour ces études de caractérisation, la plateforme SALSA est équipée de 4 spectromètres de masse (MALDI-TOF/TOF, ESI-Q, ESI-TQ et ESI-UHR-QTOF couplés à des systèmes chromatographiques) et 2 spectromètres RMN (250 et 400 MHz). Les analyses UHPLC-UHR-QTOF sont réalisées sur un système faisant partie des équipements mutualisés de la Fédération de Recherche « Physique et Chimie du Vivant » FR2708, devenue récemment Fédération de Recherche et d'Animation (FRA) en 2024.

### Évaluation de la contribution des méthodes métabolomiques à la recherche de nouveaux ingrédients naturels pour l'industrie cosmétique ou agronomique

Les venins, les micro-organismes et les plantes sont une source incroyable de bioactifs naturels, dont beaucoup ont des propriétés physico-chimiques uniques. Ces ressources naturelles sont de plus en plus

utilisées dans les produits liés à la santé et au bien-être en raison de la demande des consommateurs. L'industrie cosmétique est confrontée à un défi majeur dans la gestion rationnelle de ses ressources (valorisation de





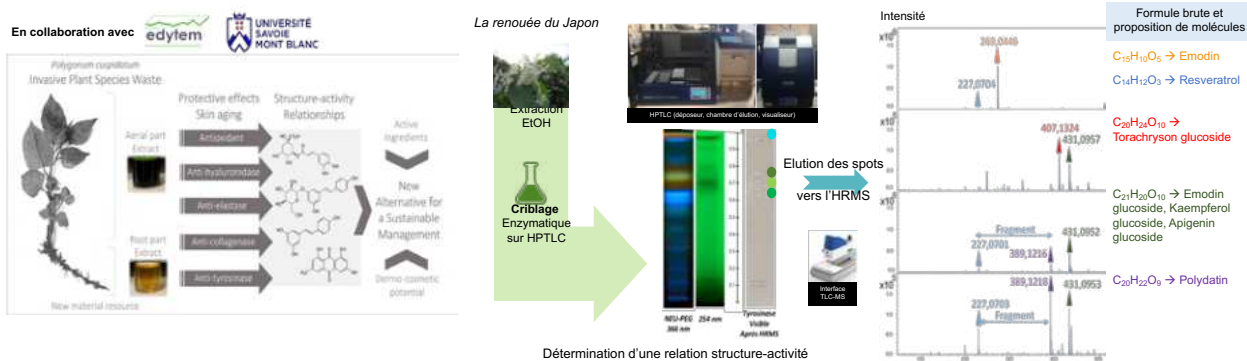
**Figure 1 :** Outils métabolomiques : Comparaison d'espèces de chêne, criblage des métabolites antioxydants et évaluation des inhibiteurs des enzymes cutanées

plantes invasives, co-produits, cultures locales, hors sol...). Afin d'aider à répondre à ces défis, la comparaison et l'identification des signatures phytochimiques de ces différentes ressources naturelles ainsi que le criblage de leur activité est essentiel.

Les outils de métabolomiques (PCA, PLS-DA) ainsi que l'utilisation des réseaux moléculaires pour l'aide à la caractérisation de ces molécules par déréplication (MS/MS ou RMN) développés conjointement avec la plateforme SALSA en font un acteur majeur dans les nombreux projets collaboratifs (ARD2020 CosmétoSciences, APR-IR, thèses) ainsi que de prestations de service dans ce domaine.

C'est ainsi qu'il a été montré et publié dans le cadre des travaux menés dans les projets ARD2020 FrelonCosm[1], ValBioCosm[2] ainsi que le projet APR-IR Chêne&Vin[3] (Figure 1 Buche et al. 2023)[4], l'apport des outils métabolomiques (PCA et réseaux moléculaires) dans l'identification et la caractérisation des molécules bioactives et discriminantes (séquençage de novo de peptides de venin de frelon, flavonoïdes, polyphénols).

Parallèlement, La plateforme SALSA a participé aux développements d'outils de criblage sélectifs et visuels tels que l'HPTLC-enzymautographie (Le et al., 2020)[5]. Ainsi, dans le cadre d'un projet collaboratif (InvaVAL) porté par l'Université de Savoie-Mont Blanc, dont l'objectif était la valorisation d'espèces exotiques envahissantes pour des applications cosmétiques ou nutraceutiques, la plateforme a participé avec l'équipe analytique de l'ICOA à la mise en place d'un nouveau criblage sélectif d'inhibiteurs de la tyrosinase par « HPTLC-enzymautographie-HRMS (Figure 2 Quinty et al. 2023)[6-7]. Cette méthodologie de criblage sélective et visuelle participe aux outils de relation structure-activité (réseaux moléculaires, fractionnement bio-guidé, études d'interactions biomoléculaires par thermophorèse à micro-échelle) décrits précédemment et offre un large panel de techniques pouvant répondre aux défis de recherche de nouveaux ingrédients cosmétique et nutraceutiques. **Ces travaux contribuent au rayonnement de la plateforme SALSA dans les stratégies régionales du Centre-Val de Loire en cosmétique (DPS3).**



**Figure 2 :** Criblage sélectif d'inhibiteurs de la tyrosinase par HPTLC-HRMS : Valorisation de plantes exotiques (renouée du Japon, ambrosie, solidage)

## 2. Innovation Thérapeutique et Diagnostique, diversité moléculaire

La plateforme SALSA propose sur un seul site de nombreuses offres de service dans le cadre d'études de drug discovery, de pharmacocinétique (ADME-Tox), de caractérisation d'agents d'imagerie biologique non invasifs de synthèse ou bien encore de biothérapeutiques (mAb, ADC) par UHPLC-HRMS. Pour ce faire, elle bénéficie de compétences transverses uniques en région Centre-Val de Loire allant de la synthèse de produits non commerciaux (à l'échelle du gramme), d'étalons ou de métabolites, en passant par l'analyse et le dosage de petites et moyennes molécules bioactives au travers de mesures spectroscopiques (UV-visible, Infrarouge, polarimétrie et fluorimétrie) ou chromatographiques : liquide (détection UV, ELSD, MS), HPTLC (détection UV, MS), gaz (détection FID), à la caractérisation et purification chirale et achirale (SFC-UV/ELSD) de composés bioactifs pour des études cellulaires mais aussi in vivo.

Ainsi, ces analyses peuvent être effectuées dans le cadre de diverses problématiques :

- Innovation en chimie médicinale et recherche translationnelle appliquée à l'oncologie, aux pathologies du Système Nerveux Central et à l'infectiologie.
- Étude de drug discovery et pharmacocinétique : Criblage et suivi de voies de métabolisation avec des enzymes cibles.
- Développement d'agents d'imagerie optique : nouvelles sondes fluorescentes (visible, proche infrarouge, large Stokes shifts).
- Étude des processus glycobiochimiques au niveau moléculaire grâce à la synthèse de glycomimétiques, glycoconjugués et oligosaccharides.
- Caractérisation de nouvelles molécules issues de méthodologies de synthèse innovantes en **chimie hétérocyclique (N, O, S)** ou hémisynthèse.
- Analyse de conjugués anticorps-médicament (ADCs) en vue de déterminer le nombre de principes actifs fixés par anticorps (DAR).

De plus, une plate-forme en ligne d'outils d'analyse et de prédiction de données de petites molécules bioactives et d'inhibiteurs de protéines kinases (<http://sbc.icoa.fr/>) a été développée au sein de l'équipe Bioinformatique Structurale et Chémoinformatique (SB&C) de l'ICOA. De par leurs activités à l'interface chimie et biologie pour le vivant, l'ICOA et sa plateforme sont des acteurs de longue date de la Chimiothèque Nationale (fondateur), de la plateforme ChemInfoScreen et de ChemBioFrance.

### Innovation Thérapeutique et Diagnostique, diversité moléculaire

L'innovation en chimie médicinale et recherche translationnelle appliquée à l'oncologie, aux pathologies du Système Nerveux Central et à l'infectiologie est au centre de nombreux défis menés au sein des 3 équipes de synthèse de l'ICOA. En effet, depuis plus de 10 ans l'ICOA a assis son positionnement et sa reconnaissance comme acteur essentiel dans le domaine des 'petites' molécules bioactives, en santé, imagerie, notamment avec les deux PIA LabEx SynOrg et IRON auxquels il appartient voire coordonne. C'est dans ce contexte que la plateforme SALSA a pu participer et développer des compétences transverses allant de la synthèse de briques moléculaires, précurseurs pour la synthèse finale d'une librairie d'actifs à l'échelle du gramme, puis à la qualification de la pureté au travers de purifications chirales ou achirales jusqu'à la caractérisation fine par MALDI-TOFMS, UHPLC-HRMS et RMN 1D ou 2D.

#### Santé, Imagerie

Récemment, la plateforme SALSA a participé à des projets sur le développement de nouvelles molécules d'imagerie telles que des ligands fluorés ciblant le système cholinergique (APR-IR Région Centre-Val de Loire Bialz) dont le composé leader est à la porte des essais cliniques chez l'homme ; ou bien le développement de molécules fluorescentes innovantes pour aider les chirurgiens, en éclairant spécifiquement les tumeurs et les métastases (par exemple la synthèse de dendrimères poly(amidoamine) dérivés du noyau anthraquinone fluorescent et émettant dans le proche infrarouge (AQ-PAMAF). Dans le cadre de ce dernier, la plateforme SALSA a été en mesure de mener un scale-up de la synthèse de réactifs non commerciaux, la purification de produits ou intermédiaires de synthèse par chromatographie préparative ainsi que le suivi de la synthèse des différentes générations (G-0,5 à G3) des dendrimères par RMN 1H, 13C versus une

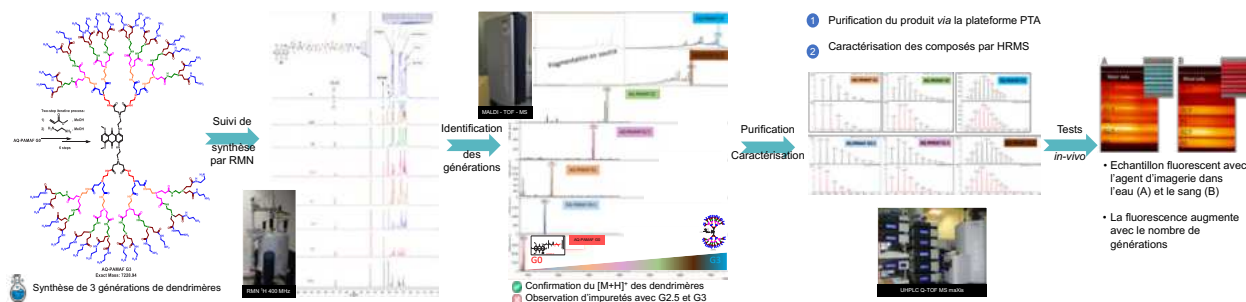


Figure 3 : Caractérisation d'agents d'imagerie biologique non invasifs par RMN 1H, MALDI-TOF et HRMS

caractérisation de ces derniers (> 7000 Da) par MALDI-TOF en  $[M+H]^+$  et HRMS en  $[M+nH]^{n+}$  (Figure 3, Jouad et al., 2022)[8]. C'est ainsi que l'ensemble de ces suivis spectrométriques (RMN et MS) ont permis d'évaluer le bon contrôle des différentes générations de dendrimères ainsi que les limitations de ces voies de synthèse avec l'apparition de cyclisation intramoléculaire dès les générations > G2,5.

### Santé, Pharmacocinétique

Dernièrement, la plateforme SALSA a participé à de nombreux projets de criblage in vitro de la bibliothèque d'analogues sur des enzymes (telles que les CYP450) et un suivi des voies de métabolisation ou d'inhibition par analyse en chromatographie liquide couplée à une détection par spectrométrie de masse à haute résolution. Ces analyses offrent des informations indispensables aux collègues organiciens qui se situent à l'interface de la chimie médicinale et du développement de sondes pour la sécurité des actifs pharmaceutiques (APR-IR Flupo, APR-IR SilenCYP) avec le développement de petites molécules organiques (série azole) qui pourront devenir des outils d'évaluation de l'impact cellulaire humain de molécules exogènes, seules ou en cocktail. Mais aussi dans le domaine cosmétique (projet ARD2020 CosmétoSciences Excel), avec le suivi et la caractérisation de PROTACs (proteolysis targeting chimera) afin de mesurer les aspects ADME-Tox, incluant les études de toxicité et de métabolisme mais aussi de pharmacocinétique.

Outre ces développements, la plateforme SALSA-HRMS a été impliquée dans le suivi pharmacocinétique de l'élimination des molécules actives après une administration (par voie orale ou intraveineuse) sur modèle de rat ou souris (analyse de plasma, cerveaux) (Figure 4).

### Santé, Oncologie (ADC)

Depuis quelques années la plateforme SALSA-HRMS analyse des biopharmaceutiques, et plus particulièrement des conjugués anticorps-médicament ou ADCs (Antibody Drug Conjugates), en collaboration avec l'équipe IMT de l'Université de Tours[9-11]. L'objectif premier étant de mesurer le nombre de principes actifs fixés par anticorps : le DAR (Drug-to-Antibody Ratio), information difficile à obtenir sans la HRMS, de façon à ce que les chimistes organiciens puissent optimiser leurs conditions de synthèse et in fine valider l'activité de leur ADC par des tests biologiques.

La Figure 5 illustre un spectre de masse obtenu d'une part sur l'anticorps Trastuzumab non conjugué ; les différents pics observés étant liés à l'hétérogénéité de glycosylation, et d'autre part sur le conjugué lysine Trastuzumab emtansine (Kadcyla) : chaque groupe de pics représente un DAR, permettant ainsi le calculer le DAR moyen.

Les analyses actuellement réalisées sur la plateforme SALSA le sont en conditions dénaturantes, mais il sera bientôt possible de les effectuer en conditions natives, permettant ainsi de vérifier l'intégrité

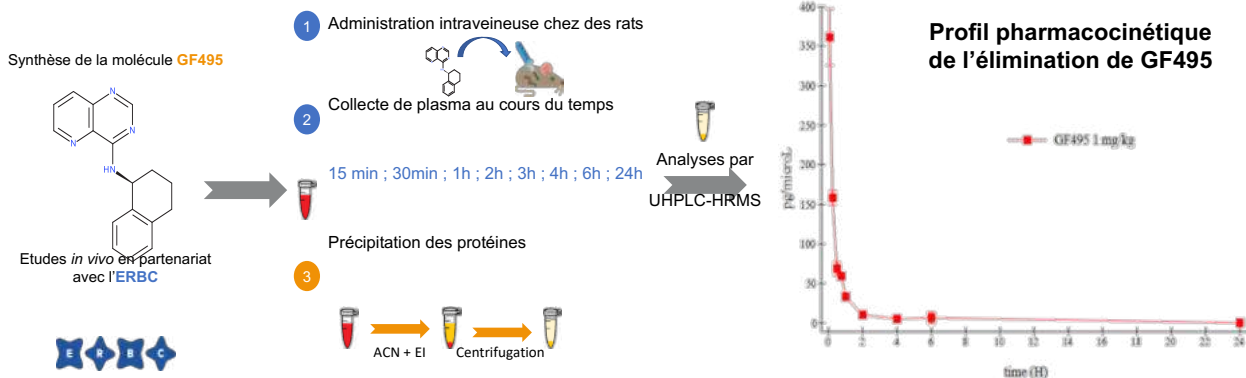
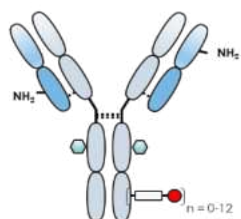


Figure 4 : Étude du profil pharmacocinétique d'élimination du GF495 après administration intraveineuse dans une matrice plasmatique par UHPLC-HRMS

Utiliser un anticorps comme **vecteur** pour délivrer un **principe actif** :



Conjugué Lysine  
Amidation sur les lysines

ADC : Antibody Drug Conjugate = conjugué anticorps-médicament  
DAR : Drug-to Antibody ratio

Conditions

dénaturantes



Détermination du DAR :

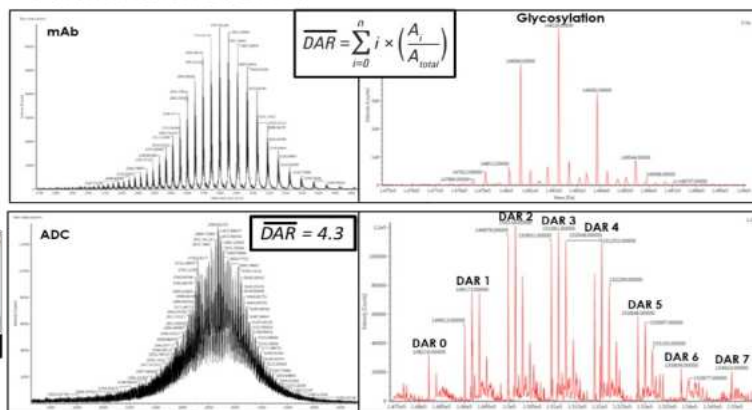


Figure 5 : Détermination du DAR du Kadcyla (Trastuzumab emtansine ; ADC conjugué lysine) par HRMS

structurale dans le cadre de conjugués cystéine non covalents.

L'ensemble de ces travaux sur l'innovation thérapeutique et diagnostique contribue au rayonnement

de la plateforme **SALSA dans la filière du médicament, DPS2** de la stratégie régionale d'innovation du Centre-Val de Loire.

### 3. Perspectives

Après la brève description des activités de la plateforme SALSA, **les défis de caractérisation structurale** étant de plus en plus complexes (diversité moléculaire, isomérisation, sensibilité), ils impliquent le **besoin d'acquisition de nouvelles techniques**. Ceci s'intègre dans la **démarche qualité de l'ICOA et de la plateforme SALSA**, afin de permettre à cette dernière de continuer à répondre à l'ensemble des problématiques soulevées par les chercheurs (académiques et privés). Dans ce contexte, **l'Institut participe à des appels à projets** (APR-IA, ANR, projets européens, CPER et FEDER) **afin de permettre le renouvellement des instruments existants ainsi que l'acquisition de nouvelles technologies**. Parmi ces acquisitions, la plateforme a pu acquérir une chaîne chromatographique hybride **UHPLC-SFC (2022)** et son **collecteur (2023)** qui permettront, entre autres, la réalisation **d'analyses chirales et la collecte** de composés énantiopurs en vue d'effectuer des tests biologiques. Parallèlement, l'ICOA et la plateforme SALSA ont déposé dans le cadre du programme **CPER-ESTIM-ICOA (2021-2027)**, une demande d'acquisition d'un spectromètre **RMN 500 Mhz** ainsi que d'un **nouveau spectromètre de très haute résolution Orbitrap Ascend Tribid avec un large panel : de sources (ESI, APCI, DBDI, AP-MALDI), de modes de fragmentation (CID, HCD et UVPD) et de couplages chromatographiques (LC, GC, CE, SFC et TLC) (installations prévues en 2024)** et qui permettront de répondre à l'ensemble des besoins actuels en R&D de leurs partenaires socio-économiques régionaux mais aussi nationaux et internationaux. Dans ce domaine, la récente création d'un **CHU à Orléans représente une opportunité majeure pour la plateforme SALSA** de continuer à innover et de mener/développer des études précliniques en collaboration avec les outils et expertises de la plateforme dans le **domaine de la santé et du bien-être**.

### Bibliographie

[1] Le et al., "Development of an LC-MS Multivariate Nontargeted Methodology for Differential Analysis of the Peptide Profile of Asian Hornet Venom (*Vespa Velutina Nigrithorax*): Application to the Investigation of the Impact of Collection Period Variation," *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 412, no. 6 (2020): 1419-1430, <http://link.springer.com/10.1007/s00216-019-02372-2>.

[2] Messaili et al., "Combination of Molecular Network and Centrifugal Partition Chromatography Fractionation for Targeting and Identifying *Artemisia Annu L.* Antioxidant Compounds," *Journal of Chromatography A* 1615 (2020): 460785, <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967319312336>.

- [3] Buche et al., "Oak Species *Quercus Robur* L. and *Quercus Petraea* Liebl. Identification Based on UHPLC-HRMS/MS Molecular Networks," *Metabolites* 11, no. 10 (October 6, 2021): 684, <https://www.mdpi.com/2218-1989/11/10/684> .
- [4] Buche et al., "Evaluation and Comparison of Dermo-Cosmetic Activities of Three Oak Species by Targeting Antioxidant Metabolites and Skin Enzyme Inhibitors," *Metabolites* 13, no. 7 (June 28, 2023): 804, <https://www.mdpi.com/2218-1989/13/7/804> .
- [5] Le et al., "Asian Hornet *Vespa Velutina* Nigritorax Venom: Evaluation and Identification of the Bioactive Compound Responsible for Human Keratinocyte Protection against Oxidative Stress," *Toxicon* 176 (2020): 1–9, <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.01.001> .
- [6] Quinty et al., "Screening and Evaluation of Dermo-Cosmetic Activities of the Invasive Plant Species *Polygonum Cuspidatum*," *Plants* 12, no. 1 (December 23, 2022): 83, <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/1/83> .
- [7] Quinty et al., "Nutraceutical Capacities of Extracts from the Invasive Plants *Ambrosia Artemisiifolia* and *Solidago Canadensis*," SSRN Scholarly Paper (Rochester, NY, May 19, 2023), <https://papers.ssrn.com/abstract=4447346> .
- [8] Jouad et al., "Near-Infrared Emitting Poly(Amidoamine) Dendrimers with an Anthraquinone Core toward Versatile Non-Invasive Biological Imaging," *Biomacromolecules* 23, no. 3 (March 14, 2022): 1392–1402, <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.1c01604> .
- [9] Jolivet et al., "Intra-Domain Cysteines (IDC), a New Strategy for the Development of Original Antibody Fragment–Drug Conjugates (FDCs)," *Pharmaceutics* 14, no. 8 (July 22, 2022): 1524, <https://www.mdpi.com/1999-4923/14/8/1524> .
- [10] Martin et al., "In Vitro Characterization and Stability Profiles of Antibody–Fluorophore Conjugates Derived from Interchain Cysteine Cross-Linking or Lysine Bioconjugation," *Pharmaceutics* 12, no. 4 (December 2, 2019): 176, <https://www.mdpi.com/1424-8247/12/4/176> .
- [11] Aubrey et al., "Site-Specific Conjugation of Auristatins onto Engineered ScFv Using Second Generation Maleimide to Target HER2-Positive Breast Cancer in Vitro," *Bioconjugate Chemistry* 29, no. 11 (November 21, 2018): 3516–3521, <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.bioconjchem.8b00668> .

## Remerciements

La plateforme SALSA remercie les porteurs des différents projets illustrés dans cet article : F. Buron, G. Chatel, D da Silva, C. Denevault-Sabourin, É. Destandau, N. Joubert, S. Routier, F. Suzenet et M-C. Viaud-Massuard ainsi que les soutiens financiers qui lui ont permis d'acquérir l'ensemble de son parc instrumental : le GIS IBiSA, l'Université d'Orléans, le CNRS, l'État, la Région Centre-Val de Loire et l'Europe au travers des différents APR-IA et FEDER obtenus (SyMBioMS, TechSab, Quali-Chim) ainsi que dernièrement le CPER/FEDER-FSE+ 2021-2027-00022860.

## Contacts de la plateforme SALSA

Pour plus d'informations, vous pouvez consulter le site internet de la plateforme : <https://www.icoa.fr/fr/content/plateforme-salsa> ou contacter les responsables de la plateforme SALSA (Dr David Da Silva et Dr Cyril Colas) par mail à l'adresse suivante : [salsa@univ-orleans.fr](mailto:salsa@univ-orleans.fr)

# Liste des thèses soutenues en 2023

## Site d'Orléans

- **ATWI GHADDAR Sirine\*** : Procédés intégrés d'éco-extraction de composés bioactifs de plantes. Investigation de l'extraction par fluides supercritiques. Direction : LESELLIER Éric & DESTANDAU Émilie (ICOA)
- **BEAUVAIS Valentin\*** : Perturbation de la biogénèse des mRNPs par le facteur bactérien Rho: analyse génomique du recrutement du complexe THO et de ses sous-unités. Direction : LEGRAND Alain et STUPAREVIC Igor (CBM)
- **BERABEZ Rayan** : Conception et validation préclinique de nouveaux inhibiteurs de LIMK pour le traitement de la Neurofibromatose de type 1. Direction : PLE Karen et ROUTIER Sylvain (ICOA)
- **BOURZIKAT Otmane** : Conception, synthèse et évaluation biologique de nouveaux inhibiteurs fluorescents et non fluorescents de la protéine kinase BRAF. Direction : SUZENET Franck, BONNET Pascal, GUILLAUMET Gérald et EL KAZZOULI Saïd (ICOA).
- **CARE Flore** : Développement de procédés intégrés en flux continu pour l'extraction et la diversification d'ingrédients naturels par voie chimique ou biocatalyse. Direction : BURON Frédéric et LAFITE Pierre (ICOA).
- **GARROS Laurine** : Impact de conduites culturelles innovantes sur la production de métabolites actifs pour la Cosmétique. Direction : MAUNIT Benoît (ICOA).
- **CLODORÉ Laura** : À la recherche de traces de vie dans les roches Martiennes: le chert de Kitty's Gap. Direction : WESTALL Frances et FOUCHER Frédéric (CBM).
- **DELEHEDDE Christophe\*** : Développement de formulations lipidiques polyvalentes pour la délivrance d'ARN messager : Incidence du ciblage du récepteur au mannose des cellules dendritiques et ingénierie des cellules Natural Killer. Direction : PICHON Chantal et EVEN Luc (CBM).
- **HASSANI Abir Nesrine** : Modélisation de spectres quasiélastiques de neutrons provenant de protéines en solution. Direction : KNELLER Gérald (CBM).
- **HUOT-MARCHAND Sarah** : Sujet 1 : Étude du rôle du récepteur NLRP3 et de la Gasdermine D dans l'inflammation pulmonaire induite par une exposition à la fumée de cigarette. Sujet 2 : Étude du rôle du récepteur NLRP6 et de la Gasdermine D dans l'inflammation pulmonaire induite par une exposition chronique à l'ozone. Direction : COUILLIN Isabelle (INEM).
- **KLOPP Benjamin** : Chimie des 3a,6a-diazapentalènes : Synthèse, réactivité et application à la conception de molécules énergétiques. Direction : SUZENET Franck et PASQUINET Eric (ICOA).
- **LE SOUCHU Élodie** : Effets des dépérissements de chênes sur les communautés d'insectes des canopées. Direction : BANKHEAD Stéphanie et SALLE Aurélien (LBLGC).
- **LIBOUBAN Pierre-Yves** : Prédiction de l'affinité de liaison des complexes protéine-ligand en combinant des simulations de dynamique moléculaire avec des algorithmes d'apprentissage profond. Direction : BONNET Pascal et ACI-SÈCHE Samia (ICOA).
- **MAGAND Jérémy\*** : Conception et synthèse d'inhibiteurs duaux de DYRK1A et CLK1, kinases impliquées dans la maladie d'Alzheimer. Direction : ROUTIER Sylvain (ICOA)
- **MAKHOKH Hanae** : Caractérisation d'osmosenseurs de peuplier et recherche de ligands dans le but d'une application en tant que biostimulants. Direction : HERICOURT François et CARPIN Sabine (LBLGC).
- **MERESSE Sarah** : Étude in vitro des effets neurotoxiques et neuro-inflammatoires de trois toxiques environnementaux analogues d'acides aminés sur des modèles de culture de cellules souches neurales. Direction : MORTAUD Stéphane (INEM).
- **MESSAOUD-NACER Yasmine** : Contribution de la voie de détection de l'ADN STING dans l'exacerbation de l'asthme allergique neutrophilique. Direction : QUESNIAUX Valérie et TOGBE Dieudonnée (INEM).
- **MICHEL Marion** : Conception, synthèse et validation de molécules hétérocycliques fluorées ciblant IDO et/ou TDO pour le traitement de la neuroinflammation et son diagnostic par imagerie 18F-TEP. Direction : ROUTIER Sylvain et BURON Frédéric (ICOA).
- **OUMMADI Asma** : Evaluation des effets de l'inflammation combinée à une exposition chronique et combinée à des agents toxiques issus de l'environnement pendant la période périnatale : Un potentiel facteur étiologique des pathologies dégénératives. Direction : MORTAUD Stéphane et GUILLIEMIN Gilles (INEM).
- **SAVANE Parisa** : Caractérisations biologique, physiologique et moléculaire de la déshydratation des embryons somatiques et zygotiques de mûle. Analyse des conséquences en termes de la qualité des graines. Direction : LELU-WALTER Marie-Anne et TEYSSIER Caroline (BioForA).
- **ZHAMUNGUI SANCHEZ Edison** : Caractérisation structurale et fonctionnelle de complexes de protéines membranaires et d'oligomères solubles d'intérêt thérapeutique directement par NALIM (Native Liquid MALDI) - TOF MS, une approche originale de Spectrométrie de Masse. Direction : CADENE Martine et BEAUFOUR Martine (CBM).

\* Primé.e au colloque

## Site de Tours

- **AGAPE Lorna** : Caractérisation structurale et fonctionnelle de complexes de protéines membranaires et d'oligomères solubles d'intérêt thérapeutique directement par NALIM (Native Liquid MALDI) - TOF MS, une approche originale de Spectrométrie de Masse. Direction : VELGE Philippe (PHA UMR ISP) & CADENE Martine et BEAUFOUR Martine (CBM).
- **AUVERT Etienne\*** : Conception, synthèse et évaluation de nouveaux immunoconjugués pour cibler le cancer du sein HER2+. Direction : JOUBERT Nicolas & SABOURIN Caroline (MED UMR CEPR).
- **BATTISTONI Arthur\*** : Développement d'une stratégie thérapeutique innovante dans la lutte contre les cancers métastatiques en utilisant le protozoaire *Neospora caninum*. Direction : DIMIER-POISSON Isabelle (PHA UMR ISP).
- **BERNARDI Ophélie** : Étude de potentiels biomarqueurs du développement embryonnaire et de la stéatose hépatique pour la sélection génétique avicole embryonnaire chez les oiseaux. Direction : DUPONT Joëlle (ST UMR PRC).
- **BLOUET Camille** : Développement de nouveaux inhibiteurs macrocycliques des kinases Pim-1/2, à potentiel anti-leucémique. Direction : DENEVAULT Caroline (MED UMR CEPR).
- **BONNEFOUS Claire** : Utilisation du parcours chez les poulets de chair : des indicateurs comportementaux, zootechniques, physiologiques et métaboliques à l'identification de potentiels prédictifs précoces. Direction : COLLIN Anne (ST UMR BOA).
- **BOURDON Guillaume** : Détermination des effets du Fibroblast Growth Factor 21 sur la qualité spermatique chez l'homme, et sur les fonctions testiculaires chez la souris *Mus musculus*. Direction : DUCLUZEAU Pierre-Henri & FROMENT Pascal (ST UMR PRC).
- **CANCEL Mathilde** : Influences de la pression thérapeutique et du micro-environnement adipeux dans l'agressivité du cancer de prostate. Direction : FROMONT-HANKARD Gaëlle (MED UMR N2C).
- **CHESNAY Adélaïde** : Pneumocystose : innovation diagnostique et étude fondamentale de la réponse immunitaire. Direction : BARANEK Thomas & DESOUBEAUX Guillaume (MED UMR CEPR).
- **DEGRANDE Rachel** : Exploration des capacités cognitives à la base des capacités de raisonnement chez la poule domestique (*Gallus gallus domesticus*). Direction : CALENDREAU Ludovic (ST UMR PRC).
- **EYMIEUX Sébastien** : Analyse du cycle du SARS-CoV-2 en modèle cellulaire par microscopie électronique à transmission. Direction : BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle & HOURIOUX Christophe (MED UMR MAVIVH).
- **EYRAUD Camille** : La diffusion de musique comme outil de gestion du stress des chevaux domestiques. Direction : PETIT Odile & ADAM Olivier (ST UMR PRC).
- **FERNANDEZ Mégane** : Stimulation de la réponse immunitaire innée durant la période néonatale : évaluation de son efficacité pour protéger contre la cryptosporidiose et induire une mémoire immunitaire innée. Direction : LACROIX LAMANDE Sonia (PHA UMR ISP).
- **FERREIRA Marion** : Analyse de la réponse aux anticorps inhibiteurs de checkpoint immunitaire chez les patients porteurs d'un cancer bronchique non à petites cellules métastatique. Direction : HEUZE VOUREC'H Nathalie (MED UMR CEPR).
- **GAUTHIER Camille** : Ciblage du récepteur de la LH par des nanobodies et impact sur la physiologie de la reproduction. Direction : CREPIEUX Pascale & REITER Eric (ST UMR PRC).
- **GRAUX Yohann** : Dynamiques intra- et interannuelles du régime alimentaire des carabes dans les champs de colza. Direction : BOYER Stéphane (ST UMR IRBI).
- **HALGRAIN Maëva** : La membrane chorioallantoïque au cours du développement embryonnaire chez le poulet : physiologie et variabilité génétique. Direction : REHAULT-GODBERT Sophie (ST UMR BOA).
- **HAOUZI Melissa** : La communication chimique chez le frelon invasif *Vespa velutina nigrithorax*. Direction : DARROUZET Eric (ST UMR IRBI).
- **HERVO Fabien** : Optimisation de l'utilisation digestive de calcium et phosphore chez la poule pondeuse - Vers un nouveau système d'évaluation des besoins par une approche de modélisation. Direction : NARCY Agnès & LETOURNEAU MONTMINY Marie-Pierre (ST UMR BOA).
- **JANOT Kévin** : Impact et signification de la modification de forme du dispositif WEB après embolisation d'anévrismes intracrâniens. Direction : PATAT Frédéric & ROUCHAUD Aymeric (MED UMR IBRAIN).
- **JEANNE Médéric** : Approche translationnelle et de neurogénomique fonctionnelle pour l'identification des bases moléculaires des troubles du développement intellectuel. Direction : LAUMONNIER Frédéric (MED UMR IBRAIN).
- **JOLIVET Louis\*** : Développement d'anticorps armés originaux dans le traitement des cancers du sein. Direction : AUDREY Nicolas (PHA UMR ISP).
- **KACHOURI Hajer** : Activité physique, éducation et vieillissement cognitif : approche comportementale et électrophysiologique. Direction : ISINGRINI Michel & ANGEL Lucie (ASH UMR CERCA).
- **KHANNA Raoul** : Approche métabo-lipidomique appliquée aux larmes et apport de la surface oculaire dans la recherche de biomarqueurs dans la sclérose latérale amyotrophique. Direction : CORCIA Philippe & PISELLA Pierre-Jean (MED UMR IBRAIN).
- **KICHOU Hichem** : Approches chromatographiques et spectroscopiques appliquées à l'étude de la pénétration d'actifs dans la peau. Direction : MUNNIER Emilie (PHA EQA NMNS).
- **LACONIN Guillaume** : Mesure de l'élasticité et de la perfusion du cerveau et des tumeurs cérébrales par ultrasons et IRM. Direction : REMENIERAS Jean-Pierre & ZEMMOURA Ilyess (MED UMR IBRAIN).
- **LE VILAIN-ABRAHAM Floriane** : Analyse d'un essai randomisé en cluster avec un critère de jugement de type survie. Direction : CAILLE Agnès (MED UMR SPHERE).
- **LECLERC Mathieu** : Impacts des contraintes environnementales sur une relation plante thermogénique – pollinisateurs : intégration des traits floraux et de la biologie thermique des pollinisateurs. Direction : PINCEBOURDE Syvain (ST UMR IRBI).

- **LIN Hsiu-Lien** : Cryoconservation des spermatozoïdes de coq : améliorer l'utilisation du glycérol comme agent cryoprotecteur. Direction : MERMILLOD Pascal & BLESBOIS Elisabeth (ST UMR PRC).
- **LOBET Sarah\*** : Relation dose-concentration-effet du cé-tuximab et du bévacizumab dans le traitement du cancer colorectal métastatique. Direction : LECOMTE Thierry & TERNANT David (MED UMR N2C).
- **MAHE Coline** : Migration spermatique dans les voies génitales femelles : interactions fonctionnelles chez le bovin. Direction : SAINT-DIZIER Marie (ST UMR PRC).
- **MAIER Benjamin** : Évaluation de l'impact de l'hypertension artérielle et de la réponse aigue hypertensive à la phase aiguë de l'infarctus cérébral sur la réponse thrombo-inflammatoire. Direction : HALIMI Jean-Michel (MED EQA T2I).
- **MALLET Corentin** : Impact de l'hypoxie et du facteur inducible par l'hypoxie (HIF-1) sur le cycle de vie de l'herpes virus de la maladie de Marek. Direction : DENESVRE Caroline (PHA UMR ISP).
- **MALSA Joshua** : Identification et caractérisation de plantes bioactives pour la gestion des petits strongles chez les chevaux. Direction : NEVEU Cédric (PHA UMR ISP).
- **MANENTI Marta** : Langage Structurel et Profils Cognitifs chez les Adultes Autistes Verbaux. Direction : PREVOST Philippe (MED UMR IBRAIN).
- **MERABET Nesrine** : Implication de la ghréline et des cellules souches neurales dans la réversion de la cachexie cancéreuse avec ou sans expansion tumorale. Direction : MOYSE Emmanuel & BERREDJEM Hajira (ST UMR PRC).
- **MEUNIER Maxime** : Mécanismes neuroendocriniens et sensoriels impliqués dans la puberté précoce induite par un mâle sexuellement actif chez la chèvre domestique (*Capra hircus*). Direction : KELLER Matthieu (ST UMR PRC).
- **MICLON Morgane** : Les macroalgues : une opportunité pour le contrôle des nématodes parasites des productions végétales et animales. Direction : NEVEU Cédric & CASTAGNONE Philippe (PHA UMR ISP).
- **MIQUELESTORENA Élodie** : Evolution du profil immuno-inflammatoire des cellules mononucléées du sang périphérique après l'infarctus du myocarde et impact sur le phénotype des fibroblastes cardiaques humains. Direction : ANGOULVANT Denis (MED EQA T2I).
- **MOUTOUSSAMY Ilona** : Implication du corps dans les performances mnésiques d'adultes âgés et d'adultes jeunes en situation de vieillissement fictif : illustration par l'activité physique et la motricité. Direction : TACONNAT Laurence & TOUSSAINT Lucette (ASH UMR CERCA).
- **NICOLAS Marianne** : Biocontrôle de la colibacillose aviaire par les bactériophages. Direction : SCHOULER Catherine (PHA UMR ISP).
- **PAPIN Marion** : Les éther-lipides endogènes favorisent l'agressivité tumorale en régulant le canal SK3. Direction : VANDIER Christophe (MED UMR N2C).
- **PERRIN Jennifer\*** : Approches d'ingénierie métabolique en levure pour la sécurisation de la production de l'anticancéreux Etoposide en Région Centre-Val de Loire. Direction : GUIVARC'H Nathalie & COURDAVAULT Vincent (PHA EQA BBV).
- **PETIT Angélique\*** : Nutrition in ovo et mise en place de l'orientation métabolique chez les poulets de chair. Direction : TESSERAUD Sophie & METAYER-COUSTARD Sonia (ST UMR BOA).
- **PICOLO Floriane** : Étude de l'évolution des gènes codant pour des protéines de transduction du signal intracellulaire chez les animaux. Direction : MONGET Philippe (ST UMR PRC).
- **PITTIOT Aubin** : Protection à long-terme induite par une immunothérapie administrée localement contre une infection respiratoire bactérienne : Preuve de concept et mécanismes immunitaires. Direction : HEUZE VOURC'H Nathalie (MED UMR CEPR).
- **RAMIREZ SERRANO Beatriz** : Rôle des micro-organismes racinaires dans la protection des plantes contre les insectes : mécanismes et conséquences pour l'agriculture durable. Direction : GIRON David (ST UMR IRBI).
- **RAVALET Noémi** : Vieillesse physiologique du microenvironnement médullaire humain et impact de l'hématopoïèse clonale. Direction : HERAULT Olivier (MED UMR N2C).
- **RAYNAUD Pauline** : Des anticorps intracellulaires pour explorer les relations entre conformations et activité du récepteur de l'hormone folliculo-stimulante (FSH). Direction : CREPIEUX Pascale (ST UMR PRC).
- **ROBERT Alison** : Rôle des protéines d'absorption du calcium mitochondrial MICUs dans la progression du cancer colorectal. Direction : RAOUL William (MED UMR N2C).
- **ROMITO Olivier** : Les canaux potassiques de faible conductance activés par le calcium SK2 et SK3 participent à la migration et la chimiosensibilité des cellules de cancer de l'ovaire séreux de haut grade. Direction : POTIER-CARTEREAU Marie & TREBAK Maohamed (MED UMR N2C).
- **SADRIN Guillaume** : Évaluation de la supplémentation en produits naturels sélectionnés par MG2Mix sur le renforcement de l'immunité protectrice et/ou la diminution de la réponse inflammatoire pathologique mis en jeu lors de l'infection par *Eimeria tenella*. Direction : LAURENT Fabrice & GRASLAND Béatrice (PHA UMR ISP).
- **SAINTE-MARTIN Vincent** : Analyse approfondie de la contribution du microbiote intestinal et de ses métabolites au développement et au fonctionnement du système immunitaire inné chez le poulet. Direction : GUABIRABA Rodrico (PHA UMR ISP).
- **SAKAI Yuki** : Le marquage et la capture synaptique dans l'association temporelle des traces mnésiques : impact dans la formation de la mémoire épisodique et liée au stress. Direction : CAMUS Vincent (MED UMR IBRAIN).
- **SERRA Loïse** : Effet de pesticides sur la fertilité femelle et mâle. Direction : DUPONT Joëlle & FROMENT Pascal (ST UMR PRC).
- **TOMAL Florian** : Effet bénéfique de solutions anticoccidiennes et d'un accompagnement vaccinal constitués de composés naturels sur la physiopathologie de l'infection par *Eimeria tenella* : rôle des macrophages. Direction : SILVESTRE Anne (PHA UMR ISP).
- **ZEHNAKER Anielka** : Modulation des voies de signalisation du récepteur FSH et de leurs conséquences sur les fonctions ovariennes à l'aide de VHH. Direction : REITER Éric (ST UMR PRC).

\* Primé.e au colloque



## Danisco : un leader mondial en biotechnologie agro-alimentaire

C'est à Dangé-Saint-Romain (Vienne) en limite sud de l'Indre-et-Loire qu'est implanté le service recherche et développement d'un des leaders mondiaux en ferments destinés à l'industrie du lait et de la viande : Danisco France.

Le 1<sup>er</sup> décembre dernier, l'entreprise, filiale du groupe américain IFF, inaugurerait de nouveaux locaux pour ses 200 salariés : construction d'une nouvelle ligne de production de ferments dédiés aux laits végétaux (6 M€) et création d'un nouveau centre de recherches sur 3800 m<sup>2</sup> (12 M€).



« L'équipe identifie, caractérise, développe et combine des souches de moisissures, de levures, de bactéries lactiques » explique Olivier Le Lièvre Directeur du site. Séquençage d'ADN et manipulation génétique font partie des missions des chercheurs.

Il faut savoir que l'équipe de recherche a fait des découvertes majeures dans le domaine des biotechnologies (voir l'article de Philippe Horvath dans la lettre d'information de Biotechnocentre n°66, <http://www.biotechnocentre.fr/>). Celles-ci ont contribué aux travaux sur les « ciseaux génétiques » (CRISPR) récompensés par le prix Nobel de chimie en 2020 délivré à Emmanuel Charpentier et Jennifer Doudna.

J-C.C.

## Le point 2024 sur l'industrie pharmaceutique en région

La région Centre-Val de Loire est traditionnellement une région productrice de médicaments, avec un vrai savoir-faire, la troisième en France. 9 200 emplois y sont comptabilisés. C'est un secteur en croissance, qui embauche. Il s'appuie sur la faculté de pharmacie Philippe Maupas et l'IMT à Tours.

**Servier**, à Orléans, leader dans le cardiovasculaire et l'oncologie fait figure de locomotive avec plus de 700 salariés, comme le groupe danois Novo Nordisk à Chartres, leader mondial des traitements contre le diabète. Ce dernier compte créer plus de 500 emplois avec un investissement conséquent de 2,1 Mds€ pour doubler sa surface et étendre ses capacités de production.

**Chiesi**, à Blois exporte à plus de 80 % sa production et affiche un investissement à venir de 60 M€. Le laboratoire pharmaceutique italien compte plus de 200 salariés et s'est diversifié sur les produits inhalés sous forme de sprays (type aérosols-doseurs) pour traiter l'asthme et la BPCO.

**Sanofi**, ce sont 300 salariés accueillis à Tours-Nord sur 2,5 ha de bâtiments. Ils y fabriquent et contrôlent des médicaments, formes sèches (comprimés, gélules), avec une expertise reconnue pour les formes à libération prolongée. 90% de la production est exportée. Sanofi y certifie aussi les importations en Europe des productions pharmaceutiques réalisées en dehors de l'Union européenne. L'actualité : un investissement de 15 M€ dans la construction d'une extension de 1 000 m<sup>2</sup>. Il s'agit de rapatrier la production du Zenon /Suvreza, médicament contre le cholestérol, jusqu'alors assurée en Turquie. Le projet est d'étendre son exportation vers l'Asie et surtout la Chine. Une exception !

**Delpharm**, chez ce façonnier de médicaments généralistes, la barre des 300 salariés est franchie à Chambray-lès-Tours. Sa spécialité : les formes liquides buvables et injectables. L'actualité : un

investissement de 28 M€ pour construire une mini-usine de 1500 m<sup>2</sup> destinée à la fabrication de seringues pré remplies.

Les laboratoires **Chemineau** à Vouvray sont spécialisés, en sous-traitance, dans la fabrication et le développement de médicaments princeps et génériques, produits de santé et d'hygiène, sous forme liquides, semi-liquides et sprays. Sur les 15 000 m<sup>2</sup> d'usine, travaillent 330 salariés en CDI et 100 en intérim. Les investissements prévus en 2024 porteront sur de nouveaux équipements de production afin de coller à l'évolution des normes et réglementations.

**Récipharm** à Monts, usine phare fabriquant des médicaments injectables, voit en revanche sa fermeture annoncée du fait d'une rupture de contrat. Elle avait beaucoup investie pour la production de vaccins anti-Covid pour la biotech Moderna. Un repreneur, Astrea Pharm, est attendu pour les 220 salariés.

**Fareva** à Amboise a repris le site de Pfizer. C'est désormais un sous-traitant très actif (formes sèches et injectables) en santé animale et humaine qui emploie 500 salariés.

**Pourtant, tout n'est pas rose. La région, comme la France, pêche pour la production de biomédicaments. Seul Servier à Orléans fabriquera bientôt les molécules initiales. Le Biocube, usine-école dédiée aux biomédicaments reste sous-exploité.**

*J-C.C.*

(d'après La Nouvelle République, supplément Cap'Eco, Janvier 2024)

## L'apprentissage automatique améliore la prédiction des résultats cliniques pour les cancers du sein invasifs

Un modèle pronostique pour le cancer du sein invasif, basé sur des mesures interprétables des composants épithéliaux, stromaux et immunitaires, est plus performant que le classement histologique effectué par des pathologistes experts. Ce modèle pourrait améliorer la gestion clinique des patientes chez qui un cancer du sein invasif a été diagnostiqué et répondre aux préoccupations des pathologistes concernant la fiabilité de l'IA en fournissant des prédictions transparentes et explicables.

### Quel est le problème ?

Le classement histologique des cancers du sein est une pratique ancestrale qui évalue les caractéristiques de l'épithélium cancéreux. Le grade histologique informe sur la stadification et le traitement, mais la subjectivité du classement peut entraîner une prise en charge clinique sous-optimale des patientes chez qui un cancer du sein invasif a été diagnostiqué. En outre, malgré les preuves que le stroma et les cellules immunitaires jouent un rôle important dans la biologie et le pronostic des tumeurs, ces éléments ne sont pas évalués lors de la classification histologique de routine. Des modèles d'IA qui analysent l'histopathologie ont été développés pour de nombreuses applications, y compris la classification du cancer du sein, mais le raisonnement opaque de ces modèles peut limiter la confiance des pathologistes dans leurs prédictions.

### Quelle est la solution ?

En faisant l'hypothèse que l'utilisation de la vision par ordinateur pourrait quantifier les modèles pronostiques latents dans le cancer du sein invasif, un algorithme a été construit pour délimiter et classer les cellules épithéliales, stromales et immunitaires ainsi que les régions tissulaires dans les images numériques à haute résolution des lames pathologiques et définir des caractéristiques thématiques pour mesurer les interactions cellule-cellule et les propriétés morphologiques dont la pertinence est connue ou supposée dans le cancer du sein (Figure). Ces mesures ont été utilisées pour créer

un modèle pronostique appelé Histomic Prognostic Signature (HiPS) qui sélectionne 26 caractéristiques de ces thèmes pour modéliser la survie spécifique au cancer du sein dans la cohorte Cancer Prevention Study II de l'American Cancer Society, un ensemble de données qui comprend 1264 participantes de 423 comtés américains. HiPS a été validé dans un ensemble de données indépendantes provenant d'un essai national de dépistage aux États-Unis. La base moléculaire des caractéristiques les plus pronostiques est explorée en reliant les images histologiques aux profils d'expression de l'ARN.

HiPS prédit mieux les résultats cliniques que le grade de Nottingham attribué par le pathologiste dans les cohortes de validation indépendantes et qu'il peut reclasser les patients en identifiant ceux dont les résultats sont meilleurs ou pires que ceux attendus à partir des mesures standard. Par exemple, les patients assignés aux strates HiPS les moins risquées de notre étude n'ont pas connu d'événement, même si certains d'entre eux avaient un pronostic défavorable d'après les mesures standard. Il est intéressant de noter que les caractéristiques stromales étaient parmi les plus pronostiques, ce qui suggère que ce que l'on sait de l'importance du stroma dans la biologie des tumeurs se manifeste dans des modèles qui sont mesurables de manière reproductible. Les corrélats moléculaires de ces caractéristiques pronostiques suggèrent qu'ils capturent la force et la composition de la réponse immunitaire et sont fortement corrélés avec les sous-types de fibroblastes associés au cancer qui ont été identifiés dans le cancer du sein.

### À suivre...

#### Pour en savoir plus :

Amgad, M. et al. A population-level digital histologic biomarker for enhanced prognosis of invasive breast cancer. Nat. Med. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02643-7> (2023).

B.C.

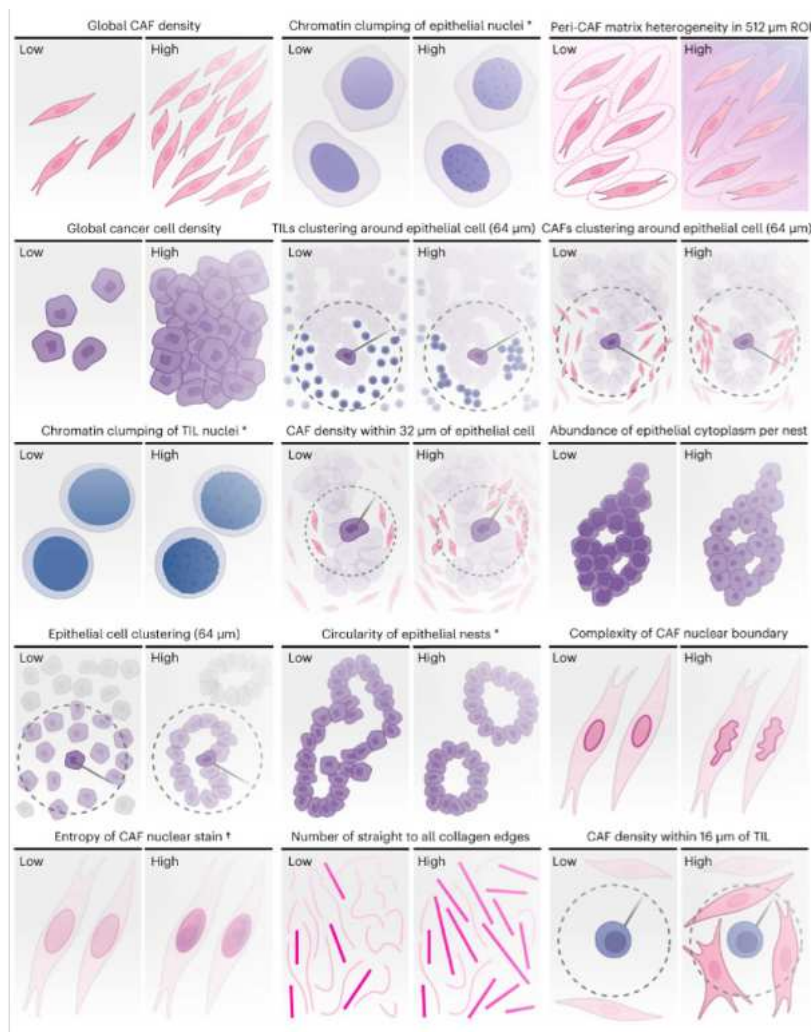


Figure. Caractéristiques morphologiques incluses dans HiPS



# 36<sup>e</sup> COLLOQUE BIOTECHNOCENTRE

*Rencontres dans les domaines des Sciences de la Vie,  
de la Santé et du Bien-Etre en Région Centre Val de Loire*



*Leucorrhinia caudalis*, Photo IRBI, Univ. Tours



## 17-18 octobre 2024

Village de vacances de La Ferme de  
Courcimont - Nouan-le-Fuzelier - 41600

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



La Ferme de  
**Courcimont**  
VILLAGE VACANCES  
FAMILLE - GROUPE - SEMINAIRE



Centre-  
Val de Loire

[www.regioncentre-valdeloire.fr](http://www.regioncentre-valdeloire.fr)