

ACTES

du

37^{ème} Colloque

BIOTECHNOCENTRE

16-17 octobre 2025
Hôtel Dupanloup
(Orléans)

Avec le concours du Conseil Régional



Christian ANDRES, Université de Tours, andres@med.univ-tours.fr - Hélène BENEDETTI, CBM CNRS Orléans, helene.benedetti@cnrs-orleans.fr - Franck BRIGNOLAS, Université d'Orléans, franck.brignolas@univ-orleans.fr - Bertrand CASTAING, CBM CNRS Orléans, castaing@cnrs-orleans.fr - Jean-Claude CHENIEUX, Université de Tours, chenieux@univ-tours.fr - Catherine DAGORN-SCAVINER, catherine.dagorn-scaviner@orange.fr - Agnès DELMAS, CBM CNRS Orléans, agnes.delmas@cnrs-orleans.fr - Isabelle GILLAIZEAU, ICOA Université d'Orléans, isabelle.gillaizeau@univ-orleans.fr - Denis MARCHAND, Polepharma, denis.marchand@polepharma.com - Aurélien MONTAGU, Le Studium, aurelien.montagu@lestudium-ias.fr - Emilie MUNNIER, Université de Tours, emilie.munnier@univ-tours.fr - Gilles PILATE, INRAE Ardon-Orléans, gilles.pilate@inrae.fr - Henri SALMON, INRAE Nouzilly, hsalmoncr@gmail.com - Christelle SUPPO, responsable ED 549, christelle.suppo@univ-tours.fr, Catherine TARAGNAT, INRAE Nouzilly, catherine.taragnat@inrae.fr - Dieudonnée TOGBE, CNRS Université d'Orléans, dieudonnee.togbe@cnrs-orleans.fr - Marie- Claude VIAUD-MASSUARD, Université de Tours, marie-claude.viaud-massuard@univ-tours.fr

Présidente : Marc BERTRAND, Technologie Servier, Orléans, mab.marc.bertrand@gmail.com

Secrétariat : Nathalie RICHE, Université de Tours, biotechnocentre@sfr.fr

Table des matières

Edito du Président de Biotechnocentre	page 3
Liste des Conférences	pages 5 à 6
Résumé des Conférences	pages 8 à 34
Liste des Présentations orales des sujets de thèse financés LVH	page 35
Résumé des Présentations orales des sujets de thèse financés LVH	pages 36 à 40
Liste des Posters	pages 41 à 44
Résumé des Posters	pages 45 à 78
Liste alphabétique des résumés	pages 79
Pages pour prise de notes	pages 80 à 88
Programme du colloque	pages 89 à 90

Chères et chers collègues, chères doctorantes et chers doctorants,

C'est un plaisir de vous accueillir au 37^{ème} colloque de Biotechnocentre qui se situe cette année à l'Hôtel Dupanloup à Orléans, mis à notre disposition par l'Université d'Orléans. C'est un changement non négligeable par rapport à l'organisation historique qui était dans un lieu entre Orléans et Tours, comme La Ferme de Courcimont dans les années passées, ou Seillac pour les années plus anciennes. Cela s'est imposé à la fois en raison de notre mode de financement qui nous conduit à réaliser quelques économies, et afin d'expérimenter la localisation du colloque alternativement à Orléans et à Tours, une suggestion formulée lors de l'enquête réalisée début 2025 sur l'avenir de Biotechnocentre.

Comme je le disais lors de notre AG 2024 au colloque de l'an dernier, l'association est dans une période d'incertitude vis-à-vis de ses sources de financements en attendant de connaître une éventuelle compatibilité avec le futur dispositif de financement de réseaux de recherche du Conseil Régional Centre-Val de Loire, attendu maintenant courant 2026. Nous n'oublions pas que le Conseil Régional nous a soutenu pendant de très nombreuses années et nous le remercions bien sincèrement, tout en réfléchissant à de nouvelles sources de financements. Mais je disais aussi que nous restions mobilisés, et vous voir rassemblés ici, cette année encore, montre que nous avons raison de vouloir continuer nos principales actions que sont un colloque annuel, une journée thématique annuelle gratuite, les lettres d'informations et le maintien à jour du site Internet (www.biotechnocentre.fr).

La journée thématique de juin, organisée cette année encore en Webinaire avec l'aide du Studium, a porté sur les thérapies innovantes et leurs promesses, et les conférences ont permis d'aborder aussi bien les nouvelles modalités liées aux petites molécules (PROTAC entre autres) que celles en rapport avec les peptides ou protéines, les ADCs, les oligonucléotides et même les thérapies cellulaires type CAR-T ou encore la radiothérapie.

La lettre de printemps N°82 a été mise à disposition pour la Journée Thématique, et celle d'automne N°83 est dans les sacs avec les documents du colloque.

Enfin, le 37^{ème} colloque qui nous réunit aujourd'hui s'annonce encore très attrayant (programme disponible à la fin du livret des actes), avec comme les années passées une diversité thématique qui colle avec la diversité des axes de recherche en région (chimie, sciences animales et végétales, santé humaine), diversité qui fait tout l'intérêt d'un tel colloque pour suivre le progrès de vos recherches et favoriser l'ouverture d'esprit de toutes et tous. Nous avons eu la chance que ce colloque soit soutenu par le projet Loire Valley-Health d'où la 1^{ère} journée dédiée aux thématiques de ce projet, important pour la région, la 2^{ème} journée étant consacrée aux autres thématiques de recherche en région.

Au nom du Conseil d'Administration, j'adresse tous mes remerciements aux Instituts de la région (INRAE, CNRS, Universités d'Orléans et de Tours avec l'Ecole Doctorale SSBCV) ainsi qu'aux entreprises et associations (Beauval Nature, Néovirtech, AgroBio, GreenPharma et Glycodiag) qui participent tous et toutes à nos actions par leur soutien financier.

Merci également aux membres du CA de Biotechnocentre, tous bénévoles, ainsi qu'à tous les intervenants d'aujourd'hui pour avoir accepté de parler de leurs activités. Merci également à vous toutes et tous qui participez à ce 37^{ème} colloque, votre présence est notre meilleur soutien.

Pour finir je vous souhaite de bien profiter de ces deux jours d'échanges conviviaux dans les sciences de la vie, échanges multi-domaines et multigénérationnels, pour notre développement aussi bien scientifique que personnel.

Bien à vous

Marc BERTRAND

Président de Biotechnocentre 2024-2025

Conférences

(Numérotation selon le déroulé du colloque)

1. **Neurogénèse hippocampique et vulnérabilité au stress.**
Catherine BELZUNG, Unité iBrain Cerveau et Imagerie, INSERM, Université de Tours, France
2. **Rôle de la neuroinflammation dans la physiopathologie de l'autisme.**
Pierre GRESSENS, INSERM, Université Paris Cité, Hôpital René Debré, Paris
3. **Characterization of the role of PURA in the neurodevelopmental phenotype associated with 5q31 duplications.**
Laurine CHALLEAT, Unité iBrain Cerveau et Imagerie, INSERM, Université de Tours, France
Ecole Doctorale SSBCV549
4. **Ultrasound meets Microbubbles: Enhancing blood–brain barrier permeability in an *in-vitro* model and in mice.**
Karen EA, Unité iBrain Cerveau et Imagerie, INSERM, Université de Tours, France
Ecole Doctorale SSBCV549
5. **Inhalation de Protéines thérapeutiques.**
Nathalie HEUZÉ, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, INSERM, Université de Tours, France
6. **Notions de chimio- et de régio-sélectivité dans la conjugaison de protéines.**
Guilhem CHAUBET, Bio-Functional Chemistry, LabEx Medalis, University of Strasbourg, France
7. **Bioproduction and sustainable supply of the anticancer compound etoposide by yeast cell-factories.**
Nicolas GAUTRON, Biomolécules et Biotechnologies Végétales, Université de Tours, France
Ecole Doctorale SSBCV549
8. **Anti-inflammatory properties of different phytocannabinoid extracts for pharmacological applications.**
Kossi AYENA, Centre de Biophysique Moléculaire, Orléans, France
Ecole Doctorale SSBCV549
9. **Utilisation de microbulles cationiques couplées aux ultrasons focalisés pour la délivrance de thérapie génique dans le glioblastome.**
Julie SCHLEDERER, Centre de Biophysique Moléculaire, Orléans et Harmonix, Orléans, France
Ecole Doctorale SSBCV549
10. **Sous-types de neutrophiles: double rôle dans la tuberculose.**
Emilie DOZ-DEBLAUWE, UMR ISP, INRAE, Université de Tours, Nouzilly, France
11. **Découverte de virus: de la métagénomique clinique à l'exploration d'interface animal/homme.**
Marc ELOIT, École Vétérinaire d'Alfort et Institut Pasteur, Paris
12. **Vacciner avec la levure : tout sauf du gâteau !**
Célya DANZELLE, UMR ISP, INRAE, Université de Tours, Nouzilly, France
Ecole Doctorale SSBCV549

- 13. L'hypoxie physiologique est un inducteur majeur de la production et de la sécrétion des protéines d'enveloppe du virus de l'hépatite.**
[Mona NIVARD](#), MAVIHVe, INSERM, Université de Tours, Tours, France
Ecole Doctorale SSBCV549
- 14. L'esprit d'entreprendre au service de la recherche**
[Christelle RIVAS](#), Pépite Centre Val de Loire, Université de Tours, Tours, France
- 15. Etude du traitement de l'information phéromonale chez l'abeille.**
[Julie CARCAUD](#), UMR EGCE, CNRS, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France
- 16. Contrôle social de la spécialisation comportementale des reines fourmis.**
[Romain LIBBRECHT](#), Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR CNRS / Université de Tours, France
- 17. Recherche des bases moléculaires de la sensibilité d'*Aedes aegypti* à l'infection par les arbovirus.**
[Fabien AUBRY](#), Unité Modèles Insectes d'Immunité Innée, IBMC, Université Strasbourg
- 18. Synthèse de glucosinolates comme outils enzymatiquement induits de bioconjugaison et de marquage sélectif.**
[Camille BEDU](#), ICOA, CNRS, Université d'Orléans, Orléans, France
Ecole Doctorale SSBCV549
- 19. Compensation environnementale d'activités de recherche en faveur du développement de l'Agroforesterie, de la biodiversité et des interactions sociétales.**
[Sophie FOUCHÉCOURT](#), UMR PRC, INRAE, CNRS, Université de Tours, Nouzilly, France
- 20. Honnêteté intellectuelle et médecine depuis la renaissance.**
[Concetta PENNUTO](#), Centre d'Etudes Supérieures de la Renaissance, Université de Tours,
- 21. The Janus-like functions of MAIT cells in lung infections.**
[Christophe PAGET](#), Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, INSERM, CHRU Tours, Université de Tours
- 22. Advancing Near-Infrared Optical Imaging Agents for Investigating SKCa Channel Regulation via the cAMP/PKA Pathway in Cancer Cells**
[Petra CUTUK](#), N2COx UMR 1069, INSERM, Université de Tours, Tours et Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, Université d'Orléans, Orléans, France
Ecole Doctorale SSBCV549
- 23. Exopolysaccharides de bactéries marines: inhibiteurs sélectifs de l'activité élastolytique de la cathepsine S humaine**
[Alexis DAVID](#), Université de Tours, CEPR, INSERM UMR 1100, 37000, France
Ecole Doctorale SSBCV549
- 24. L'autophagie dans les macrophages comme acteur du métabolisme du fer et de la polarisation lors de la stimulation par les LPS.**
[Tarek CHEKROUNE](#), Immuno NEuro Modulation (INEM), UMR 7355 CNRS, Université d'Orléans, Orléans, France
- 25. Towards a new anti-cancer therapy targeting microtubules.**
[Audrey ROUSSEL](#), Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, Université d'Orléans, Orléans, France

RESUMES DES CONFERENCES

Neurogenèse hippocampique et vulnérabilité au stress

Catherine BELZUNG

iBraIN, U 1253 & Chaire Unesco en maltraitance infantile

Chaque jour, chez le mammifère adulte, de nouveaux neurones sont générés dans le gyrus denté de l'hippocampe. Ces neurones sont peu nombreux, mais leur présence est attestée de nombreuses espèces, ce qui indique qu'ils pourraient avoir une fonction cruciale pour la survie. Par ailleurs, nous sommes confrontés chaque jour à des situations de stress qui peuvent être plus ou moins intenses, répétées ou non. Les sujets y sont plus ou moins réactifs, certains étant vulnérables, et d'autres étant résilients. Étant donné que l'hippocampe a un rôle important dans la régulation de l'axe endocrinien du stress, on peut se demander si l'une des fonctions de la neurogenèse adulte de l'hippocampe ne serait pas d'atténuer la vulnérabilité au stress. Nous exposerons différents travaux menés à l'aide de modèles animaux murins et montrant une implication de la neurogenèse adulte hippocampique dans des situations de stress aigu, traumatique mais aussi dans des situations de stress chronique modéré.

Rôle de la neuroinflammation dans la physiopathologie de l'autisme

Pierre GRESSENS

UMR1141 NeuroDiderot, Inserm-Université Paris Cité, Paris

Des mutations dans plusieurs gènes, des translocations génomiques, et des variations du nombre de copies ont été impliquées dans les troubles autistiques (TA), mais chaque facteur génétique n'est responsable que d'une petite fraction de cas. En outre, il est évident que les facteurs environnementaux jouent un rôle important dans la pathogenèse des TA. Un facteur environnemental fortement associée aux TA est la naissance prématurée, les bébés prématurés ayant un risque 7-11 fois plus élevé de développer des TA comparé à des enfants nés à terme. Les mécanismes physiopathologiques sous-jacents ne sont pas entièrement connus mais différents éléments ont émergé dans de la littérature : i) la naissance prématurée spontanée se déroule le plus souvent dans un contexte de chorioamniotite conduisant à un syndrome inflammatoire fœtal et néonatal; ii) différentes équipes ont montré un lien expérimental entre inflammation fœtale et développement ultérieur de signes comportementaux compatibles avec les TA; iii) les gènes identifiés dans l'autisme codent pour plusieurs d'entre eux pour des protéines synaptiques suggérant fortement que les TA sont des maladies de la connectivité et du fonctionnement synaptique; iv) des travaux récents ont démontré que les cellules microgliales (macrophages du cerveau) sont essentielles pour la maturation synaptique normale; v) les modèles animaux ont permis de montrer que ces cellules microgliales s'activaient fortement en cas d'inflammation périnatale, cette activation massive ayant un impact potentiellement délétère sur la production and stabilisation synaptiques ; vi) il existe de plus en plus de preuves de l'implication spécifique du cervelet dans les TA ; vii) chez l'homme, il y a une croissance rapide du cervelet durant le troisième trimestre qui est perturbée par un accouchement prématuré.

Mots-clés : troubles du neurodéveloppement, environnement, prématurité, inflammation, microglie, synapses, élimination synaptique

Characterization of the role of PURA in the neurodevelopmental phenotype associated with 5q31 duplications.

Laurine CHALLEAT¹, Chloé Boisseau¹, David Laurenceau², Solène Remize^{1,2}, Noémie Celton², Lara Kerbellec², Céline Pebrel-Richard⁴, Matthieu Egloff⁵, Caroline Navarro⁶, Christine Francannet⁴, Tanguy Niclass⁷, Brigitte Gilbert-Dussardier⁵, Sandrine Vonwill², Médéric Jeanne^{1,2} Marie-Laure Vuillaume-Winter^{1,2,*}, Frédéric Laumonnier^{1,2,*}

1 Université de Tours, INSERM, Imaging Brain and Neuropsychiatry iBrain U1253, 37032, Tours, France.

2 Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Tours, France.

3 UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France.

4 Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire d'Estaing, Clermont-Ferrand, France.

5 Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers, France. Université de Poitiers, Poitiers, France. Laboratoire de neurosciences expérimentales et cliniques, INSERM, Université de Poitiers, Poitiers, France.

6 Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Moulins, Moulins, France.

7 Service de Génétique, Groupe Hospitalier de La Rochelle-Ré-Aunis, La Rochelle, France.

* Equal contribution

Purine rich element binding protein A (PURA) encoded by the *PURA* gene (5q31) is an important transcriptional regulator that binds DNA and RNA and has a key role in neuronal development and differentiation. Haploinsufficiency of this gene has been reported to cause a severe neurodevelopmental syndrome with a wide range of symptoms including motor delay, neurodevelopmental delay and intellectual disability. Only one large 5q31 duplication of 3.36 Mb involving this gene has been described by Rosenfeld et al. in 2011 in a patient who exhibits less severe symptoms with global developmental delay. However, the consequences of PURA overexpression on neurocognitive development have never been studied.

Through a national collaboration, we collected four heterozygous (three *de novo*) 5q31 duplications in four unrelated patients presenting the same symptoms than those observed in cases of *PURA* deletion or *PURA* mutations, but less severe. To understand whether *PURA* duplication alters the neurodevelopmental trajectory and induces alterations at the dendritic and synaptic levels, we performed *in vitro* functional studies on mouse hippocampal neurons. PURA has been overexpressed in these neurons by transfecting a PURA-MYC-DDK plasmid to mimic gene dosage effect.

We show that overexpression of PURA protein induces a significant decrease in proximal dendritic arborization and in the number of dendrites compared to control condition. Ongoing experiments are assessing whether these structural changes are associated with alterations in synapse formation and maturation.

Together, our results indicate that increased PURA expression can influence neuronal development and may contribute to the neurodevelopmental phenotype observed in duplication carriers.

Key words: PURA, 5q31 duplication, intellectual disability.

Ultrasound meets Microbubbles: Enhancing blood–brain barrier permeability in an *in-vitro* model and in mice.

Karen EA¹, Damien Fouan¹, Antoine Passet², Jean-Yves Tartu¹, Margot Pinaud¹, Nicolas Taulier³, Wladimir Urbach^{3,5}, Christiane Contino-Pépin⁴, Stéphane Desgranges⁴, Hélène Blasco^{1,6}, Philippe Corcia^{1,7}, Patrick Vourc'h^{1,6}, Jean- Michel Escoffre¹

¹Université de Tours, INSERM, Imaging Brain & Neuropsychiatry iBrain U1253, Tours, France

²Present address: Université de Bordeaux, INSERM, Neurocentre Magendie U1215, 33077, Bordeaux Cedex, France

³Laboratoire d'Imagerie Biomédicale, LIB, Sorbonne Université, CNRS, INSERM, Paris, France

⁴Équipe Systèmes Amphiphiles bioactifs et Formulations Eco-compatibles, UPRI, Université d'Avignon, Avignon, France

⁵LPENS CNRS UMR 8023 PSL, Paris, France

⁶Service de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France

⁷Centre de référence SLA et autres maladies du neurone moteur, CHRU Tours, Tours, France

La sclérose latérale amyotrophique (SLA), ou maladie de Charcot, est une maladie neurodégénérative qui affecte les neurones moteurs centraux et périphériques. L'absence de traitement à ce jour pour la SLA peut s'expliquer par la présence de la barrière hémato-encéphalique (BHE), une interface semi-perméable sélective séparant le parenchyme cérébral et la circulation sanguine, excluant presque tous les thérapeutiques. Les microbulles (MB) assistées par ultrasons (US) (MB-US) constituent une stratégie prometteuse pour la perméabilisation transitoire de la BHE et l'amélioration de l'administration de médicaments dans le cerveau. L'objectif de ces travaux est de perméabiliser un modèle *in-vitro* de BHE, constitué des cellules endothéliales (hCMEC/D3), ainsi que d'induire l'ouverture de la BHE chez la souris. Les cellules hCMEC/D3 sont cultivées dans des inserts Transwell® pendant 7 jours. Les MB Vevo MicroMarker® sont ajoutées au compartiment apical et une séquence US (1 MHz, 1 ms PRP, 5% DC, 0,4 MPa PNP, 2 min) est appliquée. L'intégrité de la barrière est évaluée par des tests de résistance électrique transendothéliale (TEER) et de perméabilité au Lucifer Yellow (LY) immédiatement, 24 h et 48 h après le traitement. Les MB-US induisent une diminution significative et immédiate de la TEER accompagnée d'une augmentation du transport du LY, qui reviennent à la valeur de base en 48 h, indiquant une réversibilité totale. Ces résultats montrent que, selon les paramètres appliqués, les MB-US augmentent de manière transitoire et réversible la perméabilité endothéliale. Des souris mâles C57BL/6J sont utilisées pour les expériences d'ouverture de la BHE. Le cerveau est exposé à une séquence US (1,1 MHz, 1 s PRP, 1% DC, 0,3 MPa PNP, 30 s) et le même type de MB est injecté. Immédiatement après le traitement, un colorant (Bleu d'Evans - BE) est injecté et l'animal est sacrifié 30 min après. Chez les souris traitées par MB-US, une extravasation du BE est observée dans le cerveau, absente chez les contrôles. Ces résultats démontrent que les MB-US permettent l'ouverture de la BHE chez la souris. La suite de ces travaux consistera à valider cette approche chez des souris modèles de la SLA.

Mots-clés : hCMEC/D3, Microbulles, Ultrasons, SLA

Inhalation de Protéines thérapeutiques

Nathalie HEUZÉ-VOURC'H

Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Inserm UMR1100, Université de Tours, Tours, France

L'inhalation est utilisée depuis de nombreuses années en médecine, que ce soit pour des médicaments à action locale ou systémique. Elle consiste à délivrer un médicament directement dans les poumons, sous la forme d'un aérosol et elle est souvent associée à un meilleur index thérapeutique. Cependant, elle est rare pour les protéines thérapeutiques, qui représentent une classe majeure de biomédicaments. Cette présentation passera en revue les avantages et les défis associés à l'inhalation de protéines thérapeutiques, à travers un exemple issu du projet Européen FAIR (<https://fair-flagellin.eu/>). Ce projet vis au développement d'une protéine dérivée de la flagelline bactérienne, agoniste du Toll-like receptor 5 (TLR5) comme thérapie immunomodulatrice dans le traitement adjuvant aux antibiotiques des pneumonies bactériennes multi-résistantes. La présentation couvrira la stabilité des protéines thérapeutiques pendant l'aérosolisation et les solutions pour prévenir leur agrégation, un marqueur majeur de l'instabilité. Elle mettra en évidence certains résultats liés à la pharmacocinétique (biodisponibilité systémique et rétention pulmonaire), à la pharmacodynamie et à l'efficacité thérapeutique de la flagelline inhalée dans un modèle animal proche de l'homme, pour faciliter le transfert des données précliniques à la clinique.

Mots-clés : Biomédicaments, inhalation, stabilité, pharmacocinétique, pharmacodynamie

Notions de chimio- et de régio-sélectivité dans la conjugaison de protéines

Ilias Koutsopetras,^a Valentine Vaur,^a Rania Benazza,^{b,c} Hélène Diemer,^{b,c} Charlotte Sornay,^a Yağmur Ersoy,^d Léa Rochet,^e Carmen Longo,^d Oscar Hernandez-Alba,^{b,c} Stéphane Erb,^{b,c} Alexandre Detappe,^f Arne Skerra,^d Alain Wagner,^a Sarah Cianferani,^{b,c} Guilhem CHAUBET^{*a}

^aBio-Functional Chemistry (UMR 7199), LabEx Medalis, University of Strasbourg, 74 Route du Rhin, 67400 Illkirch-Graffenstaden, France

^bLaboratoire de Spectrométrie de Masse BioOrganique (LSMBO), Université de Strasbourg, CNRS, IPHC UMR 7178, 67000 Strasbourg, France

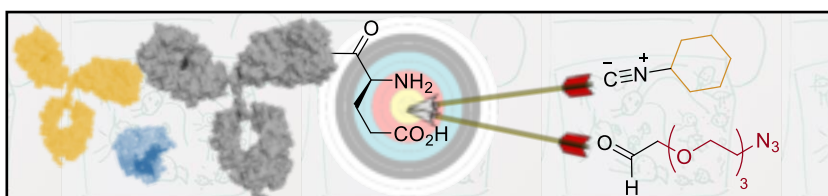
^cInfrastructure Nationale de Protéomique ProFI – FR2048, 67087 Strasbourg, France

^dLehrstuhl für Biologische Chemie, Technische Universität München, Emil-Erlenmeyer-Forum 5, 85354, Freising, Germany

^eDepartment of Chemistry, University College London, London, UK

^fInstitut de Cancérologie Strasbourg Europe, Strasbourg, France

La conjugaison chimique des protéines a connu des applications considérables au cours des dernières décennies, avec l'essor des conjugués anticorps-médicaments et leur utilisation en oncologie. Cela a nécessité des efforts considérables, étant donné que la conjugaison de protéines natives s'accompagne nécessairement de problèmes de sélectivité. Des stratégies de conjugaison chimiosélectives ont donc d'abord été développées, permettant la modification de pratiquement n'importe quel résidu d'acide aminé porteur d'une chaîne latérale réactive. Cependant, les méthodes dites site-sélectives (ou régiosélectives) sont moins courantes et plus ardues à développer. Dans ce contexte, nous avons étudié l'application de la réaction multicomposante d'Ugi pour la conjugaison sélective de groupes amine et carboxylate voisins à la surface de protéines. Grâce à un travail méthodologique approfondi, nous avons réussi à développer un ensemble de conditions permettant la modification hautement sélective d'anticorps portant des résidus *N*-terminaux de glutamate et d'aspartate. Nous avons également montré que la sélectivité de notre stratégie pouvait s'appliquer à d'autres formats de protéines, en particulier sur les anticalines, pour lesquelles la mutagenèse dirigée a permis de mettre en évidence l'importance clé d'un seul résidu lysine.



Mots-clés : bioconjugaison ; anticorps ; réactions multicomposantes

Bioproduction and sustainable supply of the anticancer compound etoposide by yeast cell-factories

Nicolas GAUTRON¹, Céline Mélin¹, Ana Luisa Lopez Vazquez¹, Marianne Unlubayir¹, Loïc Guillonneau², Sébastien Besseau¹, Jillian Marc¹, Vincent Courdavault¹

¹ (UR 2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales, Université de Tours)

² (Orgapharm, groupe Axyntis)

Lignans are a family of specialized metabolites produced by numerous plants with broad pharmaceutical applications. Among them, etoposide, derived from podophyllotoxin is widely employed in cancer therapy. Nowadays, this compound is produced by semi-synthesis of precursors extracted from parts of medicinal plants such as *Podophyllum hexandrum*. This production puts pressure on natural resources, which are difficult to cultivate outside their original biome and further affected by global warming, leading to huge variations in production. Moreover, as observed during the COVID pandemic, the scarcity of these raw materials makes importation much more difficult.

To address these issues, relocating production by developing new strategies is essential to ensure a sustainable access to this compound for patients. Among these strategies, the bioproduction of this metabolite, achieved using yeast engineered with heterologous plant genes, offers the advantage of enabling more stable and consistent local production. This eliminates dependence on original plant resources, particularly when combined with a systemic bioprocess engineering approach.

In this context, the aim of our work was to fine-tune the design and construction of an engineered *Saccharomyces cerevisiae* strain expressing genes ensuring the production of 4'-demethylepipodophyllotoxin (4'dEPT), a new precursor for the etoposide. Subsequently, we rationally implemented a controlled cultivation process by combining optimized feeding strategies and physicochemical parameters while identifying and overcoming scale-up bottlenecks. This 4'dEPT-producing strain ultimately enabled the bioconversion of 577 mg. L⁻¹ of this lignan in a 2-liter bioreactor, representing the highest titer reported to date.

The next step will be to further optimize upstream process steps to achieve economically viable levels for industrial-scale use.

Mots-clés : 4'-Demethylepipodophyllotoxin, Bioproduction, Bioprocess, Scale-up, cell factory

Anti-inflammatory properties of different phytocannabinoid extracts for pharmacological applications

Kossi AYENA ^{1,2}, Chloé ROBIN ¹, Alicia HARRY ¹, Clémence COUTON ^{1,3}, Jean-Baptiste MADINIER ¹,
Hugues PERIBERE ², Guillaume GABANT ¹, Carine SALLIOT ³, Lucile MOLLET ¹

¹ Centre de Biophysique Moléculaire (CBM) - CNRS UPR4301, Université d'Orléans, ² Overseed SAS, ³ CHU d'Orléans, université d'Orléans, laboratoire LI²RSO

1

Cannabis has been used for millennia for its therapeutic properties, primarily attributed to phytocannabinoids (pCBs), mainly cannabidiol (CBD) and Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), the latter being the main psychoactive compound. Minor pCBs, together with terpenes, contribute to the so-called “entourage effect” by modulating the endocannabinoid system. These molecules interact with the canonical receptors CB1 and CB2, as well as with numerous other targets, and exert various biological effects, including well-documented anti-inflammatory activity.

Since 2020, France has conducted a medical cannabis experimentation program relying on imported pharmaceutical products. To establish a national supply chain, a regional consortium was created in Centre-Val de Loire, bringing together Overseed, the first French biotech authorized to develop pharmaceutical cannabis R&D, the CBM for preclinical evaluation, and the University Hospital of Orléans for future clinical trials. Overseed has stabilized several cannabis varieties with distinct phytochemical profiles. Extracts from dried flowers were obtained by dynamic ethanol maceration (with or without heating) or by supercritical CO₂ extraction. Their phytochemical profiles, consistent with the original varieties, were confirmed by LC-MS. These extracts were tested on immune cell models, including THP-1 monocytes (differentiated into macrophages), peripheral blood mononuclear cells (PBMC), and neutrophils (PN) from healthy donors. An inflammatory context was induced by stimulating Toll-like receptors (TLR2/1, TLR3, TLR4) or surface glycoproteins. The extracts demonstrated anti-inflammatory effects, as evidenced by reduced secretion of IL-6 and TNF- α (measured by ELISA). These anti-inflammatory effects were associated with modulation of cannabinoid receptor expression, particularly CB1, as quantified by RT-ddPCR. Toxicity varied according to the phytochemical profile. Heated extracts, enriched in decarboxylated pCBs, displayed higher toxicity but also greater efficacy in modulating inflammation, particularly those enriched in CBD or with balanced THC/CBD ratios. Ongoing investigations are extending these findings to additional cytokines and neuronal models. A preclinical study has also been initiated on PBMC and PN from 100 patients with immune-mediated inflammatory diseases (IMIDs), including rheumatoid arthritis, spondyloarthritis, inflammatory bowel disease, psoriatic arthritis, systemic lupus erythematosus, and Sjögren's syndrome. The objective is to identify, for each pathology, the most promising extract to be further evaluated in randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trials. These studies represent a key step toward the development of innovative and safe cannabis-based medical treatments.

Keywords : Phytocannabinoids, Cannabidiol (CBD), Anti-inflammatory activity, Immune cells, Cannabis extracts, Cytokine modulation, Medical cannabis

Utilisation de microbulles cationiques couplées aux ultrasons focalisés pour la délivrance de thérapie génique dans le glioblastome

Julie SCHLEDERER^{1,2}, Thomas Ador³, Claire Mackowiak¹, Sophie Tran¹, Maryvonne Ardourel¹, Anthony Novell³, Chantal Pichon¹, Anthony Delalande¹

¹Université d'Orléans et ART ARNm INSERM US55, Orléans, France, ²Harmonix, Orléans, France,

³Laboratoire d'Imagerie Multimodale Paris Saclay, CEA, CNRS, INSERM UMR1281, Orsay, France

Le glioblastome (GBM) est la tumeur cérébrale la plus agressive chez l'adulte, avec un pronostic défavorable et une forte résistance aux traitements actuels. Les oligonucléotides antisens (ASOs), notamment ceux ciblant les microARN oncogéniques tels que miR-21, représentent une approche thérapeutique prometteuse. Cependant, leur délivrance intracérébrale reste limitée par l'imperméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Afin de contourner cet obstacle, nous avons développé une stratégie de délivrance ciblée reposant sur l'utilisation de microbulles cationiques (cMBs) couplées à des ultrasons focalisés (FUS), permettant d'ouvrir la BHE de manière transitoire, localisée et sécurisée, et de délivrer spécifiquement la thérapie génique dans la tumeur.

Des cMBs ont été formulées et caractérisées pour permettre l'adsorption électrostatique des ASOs à leur surface. L'efficacité de chargement a été évaluée en cytométrie en flux, la stabilité par microscopie optique et la cavitation par enregistrement des signaux acoustiques. *In vivo*, des souris C57Bl6/N ont reçu une injection intraveineuse de cMBs $\pm$ ASOs suivie d'une exposition aux FUS. L'injection d'un traceur fluorescent d'extravasation a permis d'évaluer l'ouverture de la BHE. Enfin, dans un modèle orthotopique GL-261 GFP+, des cMBs chargées d'ASOs anti-miR-21 fluorescents ont été injectées puis couplées aux FUS. L'imagerie de fluorescence a permis de détecter la présence des ASOs et la quantification du miR-21 tumoral par qPCR a confirmé leur délivrance.

L'étude physico-chimique du complexe cMBs – ASOs a permis d'identifier le ratio 3 μ g d'ASOs pour 1 μ L de cMBs comme optimal, assurant stabilité et efficacité maximales du chargement. La cavitation stable optimale des cMBs chargées a été observée entre 350 et 400 kPa, condition propice à l'ouverture transitoire de la BHE. *In vivo*, ces paramètres ont permis une perméabilisation localisée, réversible et sécurisée de la BHE avec une efficacité d'ouverture similaire en présence ou non d'ASOs. Enfin, la délivrance et l'accumulation des ASOs dans la tumeur ont été validées par imagerie de fluorescence à 6 h, 24 h et 7 jours après traitement. Une inhibition du miR-21 comprise entre 20 et 80 % a été mesurée dans les tumeurs traitées aux différents temps *post-traitement*, en accord avec les données d'imagerie.

Ainsi, nos résultats valident l'utilisation des cMBs couplées aux FUS comme vecteur innovant pour franchir la BHE et inhiber efficacement un microARN clé dans le GBM. Il reste toutefois à déterminer la durée d'inhibition afin d'optimiser la fréquence des réinjections, ainsi qu'à corréler l'efficacité d'ouverture de la BHE à celle de la délivrance intratumorale pour affiner cette stratégie thérapeutique.

Mots-clés : microbulles cationiques (cMBs), ultrasons focalisés (FUS), barrière hémato-encéphalique (BHE), glioblastome (GBM), oligonucléotides antisens (ASOs).

Sous-types de neutrophiles : double rôle dans la tuberculose

Emilie DOZ-DEBLAUWE , Badreddine Bounab , Florence Carreras , Pierre Germon, Julien Pichon, Florent Kempf, Aude Remot , Nathalie Winter

INRAE, Université de Tours, Nouzilly, France.

La tuberculose (TB) due à l'infection par *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) chez l'homme ou *Mycobacterium bovis* chez le bovin, se caractérise par la formation de granulomes dans le poumon. L'afflux de cellules inflammatoires se structure lors de la phase adaptative de la réponse immunitaire pour faire barrage aux bacilles. Le granulome mature est le lieu d'un équilibre entre la multiplication contrainte des bacilles et l'inflammation qui peut entraîner la destruction des poumons lors de la TB active, forme contagieuse de la maladie .

Les neutrophiles jouent un rôle clé dans toutes les étapes de la vie du granulome. Lors de la TB active, ce sont les cellules les plus représentées dans les lavages bronchoalvéolaires chez l'homme. Ils s'accumulent également dans les lignées de souris sensibles à la TB. Comme les autres types de leucocytes du système immunitaire inné, les neutrophiles sont présents en plusieurs sous-types.

Sur la base de l'expression du CMH-II et PD-L1 (Programmed Death Ligand 1), nous avons mis en évidence deux sous-types de neutrophiles fonctionnellement et transcriptionnellement distincts dans les poumons de souris infectées par des mycobactéries. Les neutrophiles inflammatoires [CMH-II-, PD-L1lo] produisent de l'IL-1 β de façon dépendante de l'inflammasome dans les poumons en réponse à des mycobactéries virulentes et « accélèrent » l'inflammation délétère. Cette réponse est fortement exacerbée chez les souris IFN- γ R-/- . Les neutrophiles régulateurs [CMH-II+, PD-L1hi] « freinent » l'inflammation en supprimant la prolifération des lymphocytes T et la production d'IFN- γ . Cette régulation bénéfique, qui dépend de PD-L1, est contrôlée par la signalisation IFN- γ R dans les neutrophiles.

Ces résultats ajoutent une nouvelle couche de complexité aux multiples fonctions exercées par différents sous-types de neutrophiles au cours de la tuberculose et soulignent leur rôle clé en tant que partenaires de la réponse immunitaire. Les neutrophiles inflammatoires sont certainement « néfastes », aggravant la pathogenèse de la tuberculose dans les poumons. Il reste à déterminer si les neutrophiles régulateurs sont « bénéfiques » et associés à un bon pronostic pour les patients atteints de tuberculose

Mots-clés :

Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, Neutrophiles, Neutrophiles inflammatoires, Neutrophiles régulateurs Interferon gamma, CMHII, PDL-1

Découverte de virus: de la métagénomique clinique à l'exploration d'interface animal/homme

Marc ELOIT

École Vétérinaire d'Alfort

Nos objectifs scientifiques sont de découvrir, caractériser et démontrer la responsabilité de virus nouveaux ou inattendus chez des malades, et d'identifier des virus de la faune sauvage à risque d'émergence. Nous nous intéressons à deux types de situations : 1/ les patients gravement malades et suspects d'infection d'étiologie non identifiée 2/ les virus inconnus de moustiques, de tiques ou d'animaux sauvages d'écosystèmes sélectionnés responsables d'infections subcliniques ou paucisymptomatiques chez les humains fortement exposés, et représentant donc de bons candidats d'émergence. Je développerai notre stratégie basée sur le séquençage à haut débit, l'analyse bioinformatique et des analyses complémentaires d'imputabilité quand nécessaire.

Mots-clés : Virus/Zoonoses/NGS

Vacciner avec la levure : tout sauf du gâteau !

Célya DANZELLE¹, Patricia Cunha¹, Pablo Gomes Noletto¹, Florence B. Gilbert¹, Pierre Germon¹, Pascal Rainard¹, Rodrigo Prado Martins^{1*}

¹ ISP, INRAE, Université de Tours, UMR1282, Nouzilly, France ; *Correspondance

Les mammites sont les infections bactériennes intramammaires les plus fréquentes chez les vaches laitières et sont la première cause d'utilisation d'antibiotiques. Les vaccins existants sont peu efficaces car ils induisent peu de réponse cellulaire dans la glande mammaire (GM). À l'inverse, les vaccins basés sur les levures, comme *Saccharomyces cerevisiae*, déclenchent des réponses de type Th1, Th17 et des lymphocytes cytotoxiques supérieures aux vaccins classiques. Un premier essai vaccinal chez la vache laitière avait toutefois montré l'immunodominance des antigènes de la levure par rapport à l'antigène vaccinal modèle testé : l'ovalbumine (OVA). Ce travail visait à évaluer et optimiser *S. cerevisiae* comme plateforme vaccinale contre les mammites.

Six vaches ont été immunisées avec une souche de *S. cerevisiae* inactivée à la chaleur et exprimant OVA et la protéine A de la membrane externe d'*Escherichia coli* (OmpA) en surface et dans le cytoplasme. Une primovaccination intramusculaire a été suivie d'un rappel intramammaire dans les quartiers droits quinze jours plus tard. Suite à cela, tous les quartiers ont été stimulés avec OVA et OmpA. L'analyse par cytométrie en flux des sécrétions mammaires (SM) a révélé une augmentation des neutrophiles et des lymphocytes T IFN γ ⁺ et IL-17⁺ des vaches vaccinées. Étonnamment, les quartiers non rappelés ont présenté une réponse similaire aux quartiers vaccinés. En parallèle, les SM ont été stimulées *in vitro* avec OmpA ou OVA. La production d'IL-17 et d'IFN γ a été mesurée dans les surnageants par ELISA montrant qu'OmpA induisait une plus forte production d'IL-17 et d'IFN γ . Dans une tentative d'amélioration des prochaines formulations, les PBMCs des animaux immunisés ont été stimulés avec des levures inactivées par la chaleur ou avec du paraformaldéhyde (PFA). L'inactivation PFA réduisant la production d'IL-17, celle-ci n'est donc pas recommandée.

Ce travail montre pour la première fois, qu'un vaccin basé sur *S. cerevisiae* induit une inflammation neutrophilique antigène-spécifique et une réponse IL-17/IFN γ dans la GM bovine. Un rappel local partiel pourrait suffire pour immuniser les quatre quartiers.

Mots clefs : mammites bovines, vaccin, levure, réponse à médiation cellulaire

L'hypoxie physiologique est un inducteur majeur de la production et de la sécrétion des protéines d'enveloppe du virus de l'hépatite B

NIVARD M¹, Ragon M¹, Seigneuret F¹, Couteaudier M¹, de Rocquigny H¹, Chouteau P¹.

INSERM U1259, Morphogenèse et Antigénicité du VIH, des Virus des Hépatites et Émergents, Université de Tours, France

L'infection chronique par le virus de l'hépatite B (VHB) touche près de 300 millions de personnes dans le monde, constituant toujours un problème majeur de santé publique. Les modèles cellulaires d'étude du VHB sont généralement cultivés en normoxie (21 % O₂), alors que le microenvironnement hépatique est caractérisé par une faible tension en oxygène (4-8 % O₂, 1 % intracellulaire), dite hypoxie physiologique dont les facteurs de transcription Hypoxia Inducible Factors (HIF) sont les régulateurs clés. Les protéines d'enveloppe du VHB (AgHBs) sont essentielles à la formation des particules virales infectieuses et des particules sous-virales non infectieuses (SVP). L'objectif de notre travail est d'évaluer et de comprendre l'impact de l'hypoxie physiologique, particulièrement les HIFs, sur l'expression et la production de ces protéines, un enjeu majeur dans les stratégies thérapeutiques antivirales.

Des lignées hépatocytaires exprimant constitutivement ou transitoirement les protéines d'enveloppe du VHB ont été cultivées en normoxie (21 % O₂) ou en hypoxie physiologique (1 % O₂). De façon tout à fait impressionnante, la culture des cellules en hypoxie entraîne une augmentation hautement significative de la production intracellulaire d'AgHBs et de la sécrétion de SVP, avec une redistribution intracellulaire des protéines d'enveloppe suggérant un mécanisme potentiellement alternatif de formation des particules du VHB. Le traitement des cellules en normoxie avec des agents pharmacologiques mimant l'hypoxie par stabilisation spécifique des HIF reproduit ce phénotype, confirmant leur rôle majeur dans la forte régulation positive de l'expression des protéines d'enveloppe et la sécrétion des SVP du VHB en hypoxie physiologique.

Les mécanismes précis sous-jacents restent à explorer. Ces résultats importants pourraient néanmoins constituer de nouvelles pistes de ciblage antiviraux spécifiques, propres au métabolisme oxygène-dépendant des hépatocytes sur lequel semble reposer la formation des particules du virus de l'hépatite B.

Mots-clés : VHB ; hypoxie physiologique ; protéines d'enveloppe virale ; HIF

L'esprit d'entreprendre au service de la recherche

Christelle RIVAS,

Pépité Centre Val de Loire **

Et si l'esprit d'entreprendre devenait un outil stratégique au service de la recherche ? Même sans créer une entreprise, les démarches, les méthodes et outils issus de l'entrepreneuriat peuvent être mobilisées pour renforcer l'impact et la portée de travaux scientifiques, et accroître la contribution de la recherche à la société. Tout comme un entrepreneur, un chercheur possède des capacités à explorer l'inconnu, à formuler des hypothèses, à prendre des risques, à conduire des projets complexes, à persévérer face à l'incertitude. Tous deux sont des innovateurs par nature. Cette proximité ouvre des nouvelles voies pour envisager les liens entre recherche académiques et le monde socio-économique.

Les démarches et outils entrepreneuriaux (analyse de la valeur, prototypage, positionnement, prise de parole à l'oral...) peuvent ainsi favoriser l'innovation. En intégrant ces outils dans leur quotidien, les chercheurs peuvent mieux faire émerger les applications possibles de leurs travaux, interagir et collaborer plus efficacement avec les acteurs socio-économiques, et accélérer la mise en lien entre recherche et innovation. Adopter cette démarche et ces outils peut renforcer la capacité des chercheurs à piloter des projets de recherche. Cette démarche permettrait de mieux faire émerger les potentiels d'innovation issus des laboratoires, de sécuriser, valoriser et faire évoluer des projets dans un environnement scientifique de plus en plus compétitif.

En mobilisant les outils de l'entrepreneuriat — analyse de la valeur, positionnement marché, prototypage, storytelling, pitch... — les chercheurs développent des compétences clés pour le transfert de technologie, la valorisation de leurs résultats, et la collaboration avec les acteurs socio-économiques. Cette démarche leur permet de mieux faire émerger les potentiels d'innovation issus des laboratoires, même sans volonté de création d'entreprise.

Dans ce contexte de renforcement de l'innovation, un parcours structuré à destination des chercheurs, jeunes chercheurs et doctorants a été développé dans le cadre du Pôle Universitaire d'Innovation Loire Valley Innov', avec différents dispositifs mobilisables à chaque étape de développement d'une idée vers une innovation, au service des chercheurs. En particulier, le parcours pour les doctorants et jeunes chercheurs - Pépité PhD - permet d'explorer l'esprit d'entreprendre à travers trois étapes : s'inspirer (via des rencontres et témoignages), se former (ateliers, webinaires, compétences transversales), et concrétiser (grâce à des outils tels que le Statut National Étudiant-Entrepreneur, l'accès aux dispositifs de valorisation, ou les concours d'innovation).

Les doctorants et jeunes chercheurs peuvent s'inspirer, se former à l'esprit d'entreprendre, et être accompagnés pour faire évoluer leurs projets. Cette dynamique favorise une culture de l'innovation ouverte, ancrée dans la recherche publique, au service de la société.

*** Initié par le Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche en 2014, les Pépité (Pôles Étudiants pour l'Innovation, le Transfert et l'Entrepreneuriat) ont pour mission de renforcer la culture entrepreneuriale et l'innovation dans l'enseignement supérieur, en mettant en œuvre des actions de sensibilisation, de formation et d'accompagnement auprès des étudiants. Les Pépité sont fédérés en un réseau de 33 pôles, répartis sur tout le territoire français.*

Etude du traitement de l'information phéromonale chez l'abeille

Julia Mariette, Gaëlle Claisse, Camille Faber, Benjamin Andreu, Jean-Christophe Sandoz & Julie CARCAUD

Laboratoire EGCE (Evolution, Génomes, Comportement et Ecologie) – UMR9191, Université Paris-Saclay, CNRS, IRD, Gif-sur-Yvette, France

La socialité est considérée comme l'une des grandes transitions évolutives, et c'est au sein des sociétés d'insectes eusociaux que l'on observe les formes les plus avancées de vie en groupe. Le succès remarquable des colonies d'insectes sociaux repose en grande partie sur la capacité de leurs membres à adopter des comportements collectifs, coordonnés et adaptés aux exigences de leur environnement. Cette efficacité repose notamment sur une division du travail rigoureuse et une spécialisation des tâches des individus.

Chez l'abeille mellifère, presque tous les aspects de la vie d'un individu sont régulés par un système de communication chimique particulièrement sophistiqué, fondé sur l'émission et la détection d'un large éventail de phéromones. Ces messagers chimiques, pour la plupart déjà identifiés, jouent un rôle clé dans la cohésion et l'organisation sociale. Mais la variabilité dans la perception de ces signaux pourrait-elle être à l'origine de la spécialisation des tâches au sein de la colonie ? Et comment le cerveau d'un insecte social parvient-il à encoder et traiter une telle diversité de signaux écologiquement cruciaux ?

Pour explorer ces questions, nous combinons des approches comportementales à des enregistrements neurophysiologiques, notamment par imagerie optique in vivo, afin d'étudier l'impact du traitement des signaux phéromonaux sur la vie sociale des abeilles et de décrypter les circuits neuronaux sous-jacents.

Mots-clés : Insecte, olfaction, phéromone, division du travail

Contrôle social de la spécialisation comportementale des reines fourmis

Romain LIBBRECHT

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR7261 CNRS / Université de Tours

Les sociétés d'insectes présentent une division du travail entre les reines, qui monopolisent la production des œufs, et les ouvrières, qui accomplissent l'ensemble des autres tâches nécessaires au maintien de la colonie. Une telle division du travail reproducteur entre les castes de reines et d'ouvrières est au cœur du fonctionnement, du succès écologique et de l'évolution des insectes sociaux. Il est généralement admis que les reines sont intrinsèquement spécialisées dans la production d'œufs dès leur stade adulte, et que cette spécialisation constitutive est indépendante des conditions environnementales. Cependant, le processus de maturation des reines d'insectes sociaux n'est pas totalement achevé au moment de leur émergence en tant qu'adultes. Cela est particulièrement bien illustré par le comportement des reines lors de la fondation des colonies : durant cette phase, les reines fondatrices expriment un large répertoire de comportements à la fois reproductifs et non reproductifs pour produire la première génération d'ouvrières. Ce n'est qu'à partir de ce moment que les reines cessent d'exprimer des comportements non reproductifs pour se spécialiser strictement dans la ponte. Nous avons montré chez la fourmi noire des jardins (*Lasius niger*) que la présence d'ouvrières est suffisante et nécessaire pour inhiber la pluripotence comportementale, initier la spécialisation des reines et ainsi établir la division du travail lors du processus de fondation de nouvelles colonies. Nous avons également démontré que cette spécialisation est réversible, les reines retrouvant leur pluripotence comportementale lorsque les ouvrières sont retirées, même après plusieurs années de spécialisation. Nous avons observé un contrôle social similaire du comportement des reines chez de nombreuses espèces, indiquant qu'il est répandu chez les fourmis. Enfin, nous étudions actuellement les bénéfices apportés par la réversibilité de la spécialisation comportementale des reines. En explorant une flexibilité répandue mais encore sous-estimée au sein de la caste des reines, nos travaux visent à améliorer notre compréhension de la division du travail dans les sociétés d'insectes.

Mots-clés : Insectes sociaux, Division du travail, Fondation des colonies, Soins au couvain

Recherche des bases moléculaires de la sensibilité d'*Aedes aegypti* à l'infection par les arbovirus

Marine Le Berder, Faustine Ryckebush, Laurent Troxler, Noah Rose, Louis Lambrechts, Joao T. Marques,
Fabien AUBRY

Unité Modèles Insectes d'Immunité Innée, IBMC, Université de Strasbourg

Au cours des dernières décennies, on a observé une (ré)émergence sans précédent de maladies épidémiques causées par des arbovirus. *Aedes aegypti* est le vecteur le plus efficace de ces virus transmis par les arthropodes et constitue la principale cause de leur diffusion mondiale. Pourtant, nous manquons encore de connaissances fondamentales sur les mécanismes qui rendent *A. aegypti* aussi performant dans la transmission des virus humains. Cette espèce se compose de deux sous-espèces distinctes, différant à la fois sur les plans morphologique, écologique et génétique : la sous-espèce domestiquée et globalement invasive *A. aegypti aegypti* et la sous-espèce africaine native *A. aegypti formosus*. Nous avons récemment montré que ces deux sous-espèces diffèrent également par leur capacité intrinsèque à acquérir et transmettre les arbovirus. À l'aide d'approches multi-omiques basées sur la cartographie génomique et l'analyse transcriptomique à l'échelle du génome, nous explorons les différences marquées de susceptibilité à l'infection par le virus Zika observées entre les deux sous-espèces afin d'identifier les régions chromosomiques et les voies biologiques associées à cette variabilité. Comprendre les mécanismes moléculaires qui déterminent l'issue de l'infection chez *A. aegypti* est essentiel pour lutter contre l'émergence des arbovirus à l'échelle mondiale et développer de nouvelles stratégies de contrôle de leur transmission. En outre, ces travaux apporteront un éclairage nouveau sur la biologie fondamentale des moustiques et sur les liens possibles entre les adaptations associées à la domestication et la susceptibilité aux virus humains.

Mots-clés : Hôte-pathogène, moustique, virus Zika, repas sanguin, résistance

Synthèse de glucosinolates comme outils enzymatiquement induits de bioconjugaison et de marquage sélectif

BÉDU C.^a, Tomas J.^a, Schuler M.^a, Lafite P.^a, Tatibouët A.^{a*}

^a Université d'Orléans, CNRS, ICOA, UMR 7311, Orléans, France.

Les glucosinolates sont des métabolites secondaires composés d'une unité β -D-glucopyranose liée par un thiohydroximate O-sulfaté (Z) dont la variété structurale provient de la chaîne latérale. Ils font partie du mécanisme de défense des Brassicacées, associés à une β -thioglucosylhydrolase spécifique, la myrosinase, qui hydrolyse la liaison anomérique C-S, pour former un isothiocyanate (ITC). Cette hydrolyse enzymatique permet de passer d'un précurseur stable, non-toxique et soluble dans l'eau à un électrophile insoluble dans l'eau, toxique, très réactif, responsable des activités biologiques des glucosinolates dans la Nature et chez l'Homme (goût « piquant » pour la moutarde ou le wasabi, effets antitumoraux, ...). Ce système unique dans le vivant peut être utilisé comme outil de bioconjugaison alternatif pour diverses applications comme le greffage de sucres sur une protéine porteuse pour générer des néoglycoprotéines, ou le marquage sélectif d'une protéine avec des fluorophores pour une détection ciblée (Figure 1).

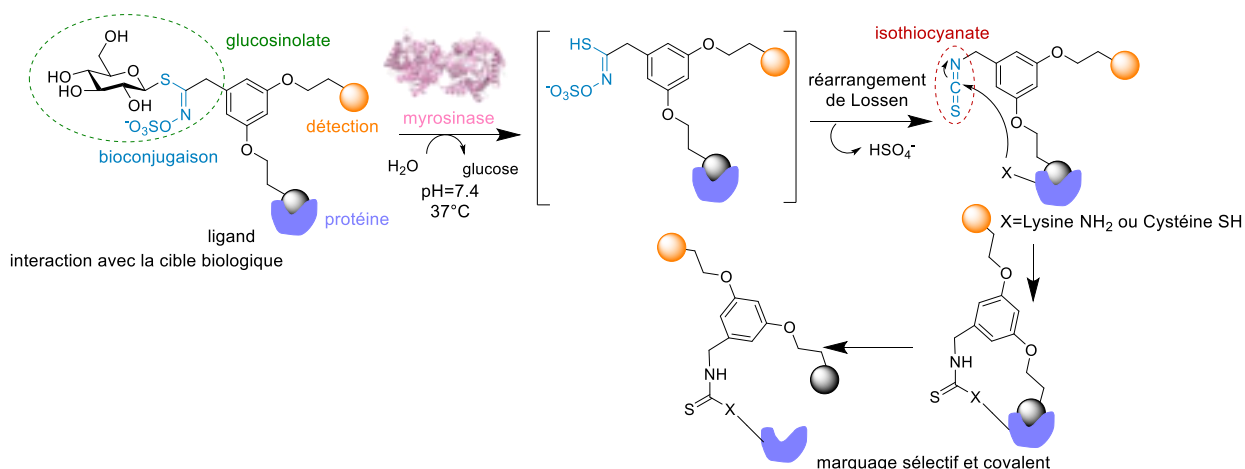


Figure 1 : Le système Myrosinase – Glucosinolates pour le marquage sélectif de protéine

Dans ce contexte, nous décrivons nos résultats récents sur la conception, la synthèse et la réactivité de glucosinolates artificiels. Nous montrons que ces composés sont des substrats d'une myrosinase recombinante et peuvent être hydrolysés de manière efficace en ITC correspondants. De plus, nous décrivons nos approches récemment développées pour la synthèse de glucosinolates plurifonctionnels, conçus pour marquer sélectivement les protéines telles que les lectines avec une myrosinase recombinante.

Mots-clés : bioconjugaison, marquage sélectif, isothiocyanates, glucosinolates, myrosinase

Compensation environnementale d'activités de recherche en faveur du développement de l'Agroforesterie, de la biodiversité et des interactions sociétales.

Sophie FOUCHÉCOURT

INRAE, CNRS, Université de Tours, PRC, Nouzilly, France

La dégradation l'environnement (atteinte des sols, réchauffement climatique, chute de la biodiversité) est imputable aux activités humaines et la recherche scientifique n'échappe pas à cette responsabilité. Face à ce constat, l'équipe BINGO de l'UMR PRC à Nouzilly s'est interrogée sur l'impact environnemental de ses propres recherches. C'est ainsi qu'a germé l'envie d'une action collective de « compensation¹ » en faveur de l'environnement et de la biodiversité. En effet, au-delà des gestes essentiels pour la réduction de « l'empreinte carbone » au quotidien dans les laboratoires (diminution des déplacements, regroupement des achats, réflexion sur les changements de pratique expérimentale), nous avons souhaité une action 1/ qui soit pérenne et visible nous permettant de communiquer sur notre engagement ; et 2/ qui mobilise des interactions sociétales à la fois avec des jeunes en formation, mais aussi avec le secteur agricole. Grâce à un financement RSE² (Responsabilité Sociétale et Environnementale) nous avons élaboré un projet en concertation avec des acteurs locaux (associations, instance régionale, paysagistes et un agriculteur). Notre ambition est triple : cette plantation profite au milieu naturel, ainsi qu'à l'exploitant agricole ; elle permet de faire se rencontrer des acteurs du monde agricole qui ne se croisent pas toujours ; enfin, elle donne à des jeunes en formation une place de premier plan. Et puis, le projet inclut aussi un objectif scientifique d'évaluation de l'impact carbone de la compensation, à l'occasion d'un stage de fin d'étude d'ingénieur agronome qui se déroulera en 2026.

¹ En référence à la séquence Éviter/Réduire/Compenser de la loi n° 2016-1087 du 8 août 2016 pour la reconquête de la biodiversité, de la nature et des paysages – Code de l'environnement

² « CompAgro » : Action de **Compensation** environnementale d'activités de recherche INRAE en faveur du développement de l'**Agroforesterie**, de la biodiversité et des interactions sociétales : *mise en place et évaluation*. Financement Responsabilité Sociétale et Environnementale INRAE 2025-2026.

Honnêteté intellectuelle et médecine depuis la renaissance

Concetta PENNUTO

Université de Tours, CESR

Entre le XVIII^e siècle et les premières décennies du XX^e, dans la presse médicale et au travers des écrits médicaux, un véritable essor d'ouvrages sur la nature du bon médecin voit le jour. Qu'est-ce qu'un bon médecin, quelle est sa ligne de conduite intellectuelle, morale, déontologique ? Comment faire en sorte que les malades puissent être soignés par des bons médecins et pas par des charlatans ou des profanes ? Le fait d'être honnête chirurgien est un devoir moral pour le soignant qui opère dans l'intérêt du malade. Ainsi, l'ouverture de chairs de déontologie est demandée dans les universités en France à la fin du XIX^e siècle. Le questionnement sur l'identité du bon médecin est pourtant ancien. Dans l'œuvre hippocratique, les textes d'éthique et déontologie fondent une branche bien identifiée de la formation et de la pensée médicale. Galien écrit un traité dont le titre reste emblématique dans l'histoire de la médecine : *Que le bon médecin est philosophe*.

Ces réflexions étant au cœur de cette communication, nous pourrions explorer les fondements historiques et éthiques permettant aux médecins et aux chirurgiens actifs entre le Moyen Âge et la Renaissance de s'interroger sur les gestes de soin, afin que leurs actes ne débordent pas dans l'intérêt personnel, la recherche d'argent, l'expérimentation, la réussite à tout prix. A l'issue de ces problématiques se place l'idée que la correction de l'ignorance n'est plus suffisante en soi pour former un bon soignant. A l'époque moderne, c'est la prise de conscience du devoir à accomplir qui distingue le bon du mauvais médecin. Aussi, l'engagement et une conduite professionnelle attentive à l'autre, à savoir le patient, constituent le noyau de l'honnêteté intellectuelle du soignant qui peut ainsi instaurer un rapport de confiance avec la personne malade et l'entourage.

Mots-clés : Bon médecin ; honnêteté intellectuelle ; éthique ; déontologie ; histoire de la médecine

The Janus-like functions of MAIT cells in lung infections

Emilie Barsac¹, Loïc Gonzalez¹, Louna Pili¹, Guy Ilango¹, Roxane Lemoine², Vikrant Minhas³, Marion Lenain¹, Matthieu Benard¹, Mégane Fernandez¹, Albanne Gaudio¹, Mustapha Si-Tahar¹, Jan-Willem Veening³, Nicholas A. Gherardin⁴, Marion Salou⁵, Olivier Lantz⁵, Alvaro Baeza Garcia⁶, Youenn Jouan^{1,7}, Thomas Baranek¹, Christophe PAGET^{2,5}

¹Inserm, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (CEPR), UMR 1100, University of Tours, France; ²US61 « Analysis of Biological Systems », CSI Department, University of Tours, University hospital of Tours, Inserm, Tours, France; ³Department of Fundamental Microbiology, Faculty of Biology and Medicine, University of Lausanne, Biophore Building, CH-1015 Lausanne, Switzerland; ⁴Peter Doherty Institute, University of Melbourne, Parkville, Australia; ⁵Institut Curie, PSL University, Inserm U932, Immunity and Cancer, 75005 Paris, France; ⁶Laboratory for Microbiology, Parasitology and Hygiene (LMPH), University of Antwerp, Belgium; ⁷Service de Médecine Intensive et Réanimation, CHRU de Tours, Tours, France.

Les lymphocytes T invariants associés aux muqueuses (MAIT) constituent une lignée particulière de lymphocytes T exerçant des fonctions importantes d'immunosurveillance au niveau des tissus barrières comme les poumons. Ces cellules sont douées d'un large panel de fonctions effectrices allant de l'immunomodulation à la réparation tissulaire en passant par la cytotoxicité. En utilisant deux modèles expérimentaux complémentaires d'infection respiratoire couvrant différents aspects de la pathologie clinique (résistance vs tolérance), nous montrons que les lymphocytes MAIT jouent un rôle protecteur dans ces deux modèles. En utilisant notamment des approches de single-cell RNA-seq, des algorithmes mathématiques, et des souris génétiquement modifiées, nous montrons que les lymphocytes MAIT jouent un rôle clé dans l'activation/différentiation de différentes populations myéloïdes effectrices. Les mécanismes protecteurs associés ont également été analysés. Enfin, nous montrons que l'activation exogène et spécifique des cellules MAIT confère une protection dans ces deux modèles de pneumonies sévères.

Advancing Near-Infrared Optical Imaging Agents for Investigating SKCa Channel Regulation via the cAMP/PKA Pathway in Cancer Cells

Petra CUTUK^{1,2}, Fabian Prevaute¹, Aurélie Chantôme¹, Timothée Lathion,² Codruța C. Bădescu-Singureanu², Svetlana V. Eliseeva², Julie Bourseguin², Stéphane Petoud² and Christophe Vandier¹

¹ N2COx UMR 1069, Université de Tours, INSERM, Tours, France; ² Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301, Université d'Orléans, F-45071 Orléans Cedex 2, France

Small conductance Ca^{2+} -activated K^+ (SKCa) channels are a subtype of potassium channels increasingly more implicated in cancer biology. In addition to their essential roles in neurons and muscles, where they regulate excitation-secretion/contraction coupling, SKCa channels contribute to tumor progression by promoting cell proliferation and metastasis in cancers such as breast, colon, prostate, ovary, melanoma, pancreas, urothelial cancer, and Ewing sarcoma. Their activity is modulated by the cAMP/PKA signaling pathway, where the activation leads to current amplitude reduction of all SKCa isoforms (SK1/2/3). Nevertheless, the exact regulatory mechanisms remain unclear due to the absence of efficient imaging tools.

To overcome this limitation, we are creating lanthanide-based luminescent probes conjugated to SKCa-specific blocking peptides. These probes enable the selective visualization of distinct SKCa isoforms, acting as near-infrared II (NIR-II) optical reporters for deep tissue imaging with high specificity, minimal background, and plasma membrane-targeted detection. SKCa channels represent promising therapeutic targets due to their role in tumor progression with SK3 channels promoting migration/invasion and metastasis, SK2 proliferation, apoptosis, and therapy resistance, and SK1 cell proliferation.

Our global goal is to unravel SKCa regulation and create innovative diagnostic tools for detecting SKCa expression in tumor biopsies. Importantly, if the peptide-blocking activity is preserved, these probes may also act as theragnostic agents, uniting diagnosis and therapy in cancer treatment. Moreover, this novel approach may represent a new paradigm for designing important tools to assess the involvement and drug ability of various cancer biomarkers.

Keywords: SKCa channel, cAMP/PKA pathway, blocking peptide, cancer, lanthanide, fluorescence, near infrared, imaging agents, optical imaging, microscopy, macroscopy.

Exopolysaccharides de bactéries marines : inhibiteurs sélectifs de l'activité élastolytique de la cathepsine S humaine

Alexis DAVID¹, Baptiste Rigoux¹, Corinne Sinquin², Martyna Maszota-Zieleniak³, Agata Zykawska², Ahlame Saidi¹, Gilles Lalmanach¹, Sergey A Samsonov³, Sylvia Collic-Jouault² et Fabien Lecaille¹¹

¹ Université de Tours, CEPR, INSERM UMR 1100, 37000, France.

² Ifremer, MASAE, Laboratoire EM3B, 44300 Nantes, France.

³ University of Gdansk, Faculty of Chemistry, Pologne.

La cathepsine S (Cat S) est une protéase à cystéine qui joue un rôle clé dans l'homéostasie pulmonaire par sa capacité à remodeler la matrice extracellulaire, en agissant en particulier sur l'hydrolyse de l'élastine (activité élastolytique). Des études cliniques indiquent que, dans de nombreux cancers humains dont le cancer du poumon, la surexpression excessive de la Cat S au niveau extracellulaire et la dégradation des fibres insolubles d'élastine sont corrélées à une progression maligne et à un mauvais pronostic de survie. De ce fait, la Cat S est considérée comme une cible prometteuse pour le développement de nouveaux inhibiteurs d'intérêt thérapeutique.

Sachant que l'activité de la Cat S peut être modulée par des polysaccharides ou des glycosaminoglycanes, nous nous sommes intéressés à une nouvelle source d'exopolysaccharides (Infernane et Diabolicane) produits par des bactéries marines extrémophiles (*Alteromonas infernus* et *Vibrio diabolicus*, respectivement), issues de sources hydrothermales océaniques profondes.

Cette étude consiste à évaluer la capacité de dérivés (sulfatés, non sulfatés, de tailles variables) d'Infernane et de Diabolicane à moduler l'activité élastolytique de la Cat S. Nous avons identifié deux inhibiteurs puissants et sélectifs de la Cat S. De façon intéressante, ces deux EPS inhibent uniquement l'activité élastolytique de la Cat S sans interférer avec ses autres activités protéolytiques. Des études de dynamique moléculaire suggèrent que ces inhibiteurs sont capables de se lier à un domaine situé hors du site catalytique (exosite) de la Cat S, essentiel pour l'interaction entre l'enzyme et l'élastine. Ces résultats présentent un nouveau mécanisme d'inhibition sélective de l'activité élastolytique de la Cat S et suggèrent que ces deux EPS pourraient des candidats prometteurs pour l'inhibition de la Cat S *in vivo* [1].

Mots-clés : Cathepsine S, Glycosaminoglycanes ,Exopolysaccharides, Inhibiteurs, Élastine

[1] David et al., *Carbohydrate Polymers* (2025)

L'autophagie dans les macrophages comme acteur du métabolisme du fer et de la polarisation lors de la stimulation par les LPS

Tarek CHEKROUNE^{1,2}, Sandra Carignon¹, Meriem Taleb¹, Florence Savigny¹, Stéphanie Rose¹, Isabelle Mercier¹, Catherine Mura^{1,2}

1- Immuno NEuro Modulation (INEM), UMR 7355 CNRS, Orléans, France;

2-University of Orléans, Orléans, France.

Chez les souris dépourvues d'autophagie dans les cellules myéloïdes (Atg5f/fLysM-cre⁺), une faible dose de LPS (intrapéritonéale, 0,1 mg/kg de poids corporel) induit des lésions tissulaires rapides dans les 4 à 6 heures suivant la stimulation, en particulier dans la rate et le foie, et est associée à une altération marquée du phénotype des macrophages. Les macrophages de la rate et du foie apparaissent gonflés et montrent une perte de fer cellulaire. En revanche, les hépatocytes des souris Atg5f/fLysM-cre⁺ accumulent un excès de fer, ce qui est corrélé à des niveaux élevés d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par rapport aux souris sauvages stimulées par le LPS. Ces altérations sont accompagnées de changements dans l'expression de la protéine membranaire ferroportine, l'exportateur de fer cellulaire, qui est diminuée dans le foie et augmentée dans les macrophages spléniques des souris Atg5f/fLysM-cre⁺ par rapport aux témoins sauvages. La réduction de l'expression hépatique de la ferroportine est corrélée à une augmentation de l'expression de l'hepcidine chez les souris Atg5f/fLysM-cre⁺ traitées au LPS. De plus, une dysrégulation des gènes impliqués dans le métabolisme du fer et la détoxification des ROS est observée. La stimulation par le LPS des macrophages dérivés d'Atg5f/fLysM-cre⁺ entraîne un déséquilibre de la polarisation M1/M2, comme l'indique l'altération de l'expression de marqueurs tels que iNOS, CD68, CD206 et CD163. De plus, le foie des souris Atg5f/fLysM-cre⁺ traitées au LPS présente une augmentation de la mort cellulaire ferroptotique et apoptotique, ainsi qu'une pyroptose généralisée dans la rate et le foie. Par conséquent, ces résultats indiquent que lors de l'inflammation induite par le LPS, le déficit d'autophagie dans les cellules myéloïdes perturbe le trafic du fer et favorise les lésions tissulaires par de multiples formes de mort cellulaire régulée.

Mots-clés : Autophagie, macrophage, polarisation, homéostasie du fer.

Towards a new anti-cancer therapy targeting microtubules

Audrey ROUSSEL¹, Amandine Serrano², Fabienne Godin², Cristine Gonçalves², Christine Mosrin², Thierry Normand¹, Hélène Bénédicti² and Béatrice Vallée²

¹Centre de biophysique moléculaire – Université d'Orléans : EAUPR4301, Université d'Orléans – France

²Centre de biophysique moléculaire – Centre National de la Recherche Scientifique – France

Microtubules are the main target of classical chemotherapies based on taxanes or alkaloids, because of their role in cell division. Despite their efficiency, these therapies cause side effects and resistance. Therefore, it is imperative to explore new therapeutic perspectives. LIMKs (LIMK1 and LIMK2) are deregulated in many cancers and appear as new therapeutic targets. LIMKs are serine/threonine and tyrosine kinases. They play a crucial role in cytoskeleton dynamics by regulating both actin filament and microtubule turnover. LIMKs promote the free tubulin form, but the molecular requirements of this process are still unknown.

We want to uncover the signaling pathway by which LIMKs regulate microtubule dynamics by identifying novel partners of LIMKs and understanding how they regulate each other.

A mass spectrometry approach of the LIMK2 interactome has allowed us to identify candidates potentially linking LIMK2 to microtubule dynamics, especially HDAC6, a protein known to deacetylate tubulin. We confirmed the interaction of LIMK2 with HDAC6 by co-immunoprecipitation in transfected HEK293T cells. We demonstrated the interaction between endogenous LIMK2 and HDAC6 by immunoprecipitation in HEK293T and HepG2 cells. We also characterized the interaction between LIMK2 and HDAC6. Currently, we are assessing whether HDAC6 is a substrate of LIMK2 and we want to determine the impact of this interaction on microtubule dynamics. Understanding the molecular mechanisms that link LIMK2 to microtubule dynamics will pave the way for the development of new targeted anti-cancer therapies, more selective with probably limited side effects.

Keywords: molecular mechanisms, cytoskeleton, microtubule, LIM kinases, cell signaling, cancer

Contrôle chimique de l'adaptation cellulaire

Ludovic COLOMBEAU

Institut Curie, CNRS, INSERM, PSL Recherche Université, Paris, France

ludovic.colombeau@curie.fr

Les cellules peuvent adopter rapidement et de manière réversible des états distincts, indépendamment de modifications génétiques — un mécanisme biologique connu sous le nom de « plasticité cellulaire ». L'acquisition de ces états est caractérisée par la surexpression de la glycoprotéine membranaire CD44, associée au développement, à l'immunité et au cancer. Bien que souvent décrite comme un marqueur de surface, la fonction moléculaire de CD44 est restée énigmatique pendant près d'un demi-siècle. Nous avons découvert que CD44 facilite l'absorption de certains métaux, notamment le cuivre et le fer, via des transporteurs à base de hyaluronates dans divers types de tissus³. Ce mécanisme d'endocytose des métaux médié par les glycanes permet l'activation des cellules immunitaires et l'acquisition d'un état tolérant chez les cellules cancéreuses (adaptation cellulaire)¹. Une augmentation du cuivre(II) dans les mitochondries soutient le cycle redox du NAD(H), favorisant la production de métabolites qui co-régulent la programmation épigénétique de l'identité cellulaire⁴. En revanche, une augmentation du fer dans le noyau cellulaire stimule l'activité des déméthylases spécifiques dépendantes du fer et de l' α -kétooglutarate, activant des programmes transcriptionnels spécifiques. Nous avons développé de nouvelles classes de petites molécules qui interfèrent sélectivement avec ces processus chimiques catalysés par les métaux dans les cellules. L'inactivation du cuivre(II) mitochondrial empêche l'inflammation aiguë in vivo, démontrant que le contrôle de la transition d'état cellulaire offre des bénéfices thérapeutiques². L'activation pharmacologique du fer lysosomal, quant à elle, induit la ferroptose chez les cellules cancéreuses persistantes tolérantes aux médicaments, impactant ainsi la progression tumorale⁵. Ces découvertes mettent en lumière un mécanisme universel d'absorption des ions métalliques et le rôle crucial de ces ions comme régulateurs de l'adaptation cellulaire, ouvrant la voie au développement de thérapies de nouvelle génération⁶.

³ CD44 regulates epigenetic plasticity by mediating iron endocytosis. S. Müller,..., R. Rodriguez*. *Nature Chem.* 12, 929-938 (2020)

⁴ A druggable copper-signalling pathway that drives inflammation. S. Solier,..., R. Rodriguez*. *Nature* 617, 386-394 (2023).

⁵ Activation of lysosomal iron triggers ferroptosis in cancer. T. Cañeque,..., R. Rodriguez*. *Nature* 642, 492-500 (2025)

⁶ Metal ion signaling in biomedicine. R. Rodriguez*, S. Müller, L. Colombeau, S. Solier, F. Sindikubwabo, T. Cañeque. *Chem. Rev.* 125, 660-744 (2025)

Présentations orales des sujets de thèse financés par LVH

(Numérotation ordre alphabétique)

1- Rôles des interférons dans l'émergence et le remplacement des variants Omicron du SARS-CoV-2.

Célestin DUBOIS-CONTOUX, (Filière 2IP, Infectiologie, Immunologie, Physiopathologie)

2- Le SOCIALOME : Dynamiques des ARN messagers dans les neurones ocytocinergiques et implications dans l'autisme.

Océane MARCHAND (Filière NEC, Neurobiologie, Ethologie, Cognition)

3- Rôle du senseur d'ADN STING dans les réponses immunitaires à l'infection et l'inflammation pulmonaire : une perspective One Health.

Charline PEYROT, (Filière 2IP, Infectiologie, Immunologie, Physiopathologie)

4- Développement de biomédicaments couplés à des matrices biosourcées à activité intrinsèque pour la prévention d'infections.

Héloïse ROBINEAU, (Filière 2IP, Infectiologie, Immunologie, Physiopathologie)

5- Interféron de type I et autres voies biologiques impliquées dans les infections par *Mycobacterium tuberculosis* et le SARS-CoV-2 dans l'environnement alvéolaire..

Vincent VILLAIN, (Filière 2IP, Infectiologie, Immunologie, Physiopathologie)

Rôles des interférons dans l'émergence et le remplacement des variants Omicron du SARS-CoV-2

Célestin DUBOIS-CONTOUX

INSERM U1259, Morphogenèse et Antigénicité du VIH, des Virus des Hépatites et Émergents, Université de Tours, France

Aux premiers stades de la pandémie de SARS-CoV-2, plusieurs variants sont apparus et ont rivalisé, chacun représentant une tentative d'adaptation du virus à son nouvel hôte. Le variant Omicron est ensuite devenu dominant et comprend aujourd'hui une gamme de sous-variants qui se concurrencent entre eux. Omicron se caractérise par une transmission efficace due à une réplication rapide dans les voies respiratoires supérieures. Les infections par différents virus induisent divers sous-types d'interférons, qui activent à leur tour des ensembles de gènes distincts, mais partiellement chevauchants. Les interférons (IFNs) constituent une réponse immunitaire rapide, activée en quelques heures après l'infection, ce qui en fait des facteurs capables d'influencer la propagation des variants Omicron.

Ce projet propose d'explorer le rôle des interférons dans la sélection des variants Omicron selon trois axes complémentaires :

1. Identifier les sous-types d'IFN qui inhibent fortement les différents variants d'Omicron en culture cellulaire
2. Caractériser les gènes stimulés par les interférons (ISGs) associés au contrôle du virus et investiguer leur mode d'action.
3. Examiner les sous-types d'IFN et les ISGs activés dans la cavité nasale de personnes récemment infectées par différents variants d'Omicron.

En complément, l'analyse des échantillons cliniques permettra d'explorer une éventuelle saisonnalité dans l'apparition et la circulation des variants Omicron.

La réalisation de ce projet permettra d'identifier les IFNs et les gènes associés activés par l'infection naturelle, de mesurer leur efficacité respective et de mettre en lumière des stratégies potentielles pour réduire la propagation du virus.

Mots-clés : SARS-CoV-2, Interféron, Évolution virale, Réponse innée

Le SOCIALOME : Dynamiques des ARN messagers dans les neurones ocytocinergiques et implications dans l'autisme

Océane MARCHAND, Lucas COURT, Emmanuel PECNARD, Lucile DROBECQ, Misbah RAZZAQ, Gaëlle LEFORT, Lucie PELLISSIER

Physiologie de la reproduction et des comportements (PRC), INRAE CNRS Université de Tours

Les troubles du spectre autistique (TSA) sont définis par des déficits de communication et d'interaction sociales, ainsi que des comportements stéréotypés, affectant 1% de la population mondiale. Malgré les efforts déployés, aucun traitement pharmacologique ciblant spécifiquement les déficits sociaux des personnes atteintes des TSA, n'a encore été validé. Pour pallier le manque de cibles thérapeutiques spécifiques, le "SOCIALOME" a été développé. Il est constitué de l'ensemble des ARN messagers liés aux ribosomes, régulés par les interactions sociales et dérégulés dans des modèles murins d'autisme au sein d'un circuit neuronal conservé. L'objectif est d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques spécifiques aux TSA en se basant sur l'analyse approfondie du SOCIALOME, en explorant la régulation des ARN messagers, depuis les corps cellulaires jusqu'aux projections des neurones produisant l'ocytocine. Ces ARNm sont ceux régulés différemment après des interactions sociales chez les souris sauvages (WT), ceux transportés différemment depuis les corps cellulaires vers les terminaisons axonales selon l'interaction, ceux dérégulés spécifiquement au sein de nos modèles murins du TSA et ceux qui diffèrent entre les sexes. L'identification des cibles moléculaires sera effectuée par des analyses statistiques et par des méthodes d'IA. La construction de modèles dynamiques permettront d'étudier les relations de cause à effet entre ces conditions. Des réseaux d'interactions géniques spécifiques aux corps cellulaires des neurones pourront être mis en place et l'utilisation de la programmation logique permettra de modéliser l'évolution temporelle des interactions géniques après différents types d'interactions sociales et modèle de souris.

La dynamique de transcription, transport et traduction de la première cible identifiée du SOCIALOME, l'ARNm de l'ocytocine, sera également étudié. Grâce à des approches génétiques et pharmacologiques, le rôle clé de cet ARNm dans les neurones ocytocinergiques modulant la sociabilité sera élucidé. En plus d'apporter de nouveaux éclairages sur les mécanismes pathologiques des TSA, notamment l'ocytocine, ce projet de thèse vise donc à identifier de nouvelles cibles moléculaires, ouvrant ainsi la voie au développement de nouveaux traitements pour améliorer la qualité de vie des personnes atteintes de TSA.

Mots-clés : Troubles du spectre autistique, neurones ocytocinergiques, interaction sociale, ARN messagers, transport et traduction locale, traductomique, biomarqueurs

Rôle du senseur d'ADN STING dans les réponses immunitaires à l'infection et l'inflammation pulmonaire : une perspective One H

PEYROT Charline, Quesniaux Valérie, Sacha Trapp, Dieudonnée Togbe

INEM UMR7355 CNRS et Université d'Orléans; ISP UMR1282, INRAE et Université de Tour, Nouzilly

Les défis sanitaires contemporains, exacerbés par les changements environnementaux, l'augmentation des polluants et le contact étroit entre les humains et la faune, ont conduit à une recrudescence des maladies pulmonaires. Pour y faire face, les agences de santé mondiales prônent l'approche « *One Health* », qui vise à intégrer la santé humaine, animale et environnementale. Ce concept est fondamental, d'autant plus que les espèces d'élevage agissent comme des réservoirs potentiels de pathogènes zoonotiques. Les lésions pulmonaires causées par des infections virales ou l'exposition à des polluants entraînent la présence d'ADN dans le cytoplasme des cellules. Ce signal de danger est détecté par la voie STING (*STimulator of INterferon Genes*), un mécanisme central de l'immunité innée. L'activation de STING déclenche la production d'interférons de type I et III et de cytokines pro-inflammatoires, modulant ainsi la réponse immunitaire et le destin cellulaire. La littérature récente suggère que la modulation pharmacologique de l'activité de STING (via des inhibiteurs ou des agonistes) pourrait offrir des bénéfices thérapeutiques significatifs pour contrôler l'inflammation pulmonaire et l'infection. Ce projet de thèse vise à décrypter le potentiel des modulations de la voie STING chez diverses espèces, notamment l'humain, les espèces d'élevage (poulet et porc), et la souris. Les objectifs principaux sont : 1) Évaluer l'efficacité et la spécificité de ces molécules dans des cellules (macrophages et cellules épithéliales respiratoires) d'origines murine, humaine, aviaire et porcine, exposées à des polluants ou à des virus spécifiques à chaque espèce. 2) Analyser l'impact de l'inhibition ou de l'activation pharmacologique de STING dans des modèles animaux précliniques de maladies pulmonaires inflammatoires et d'infection virale, afin de décrypter les mécanismes sous-jacents. Des données préliminaires issues du projet EUROFéri indiquent une réponse spécifique aux espèces face aux antagonistes de STING, soulignant que les molécules efficaces chez les mammifères ne le sont pas nécessairement chez les oiseaux. Cette thèse est essentielle pour : comprendre les spécificités de la voie STING dans le bétail, ce qui est sous-étudié et développer des outils immunorégulateurs puissants et adaptés aux espèces d'élevage, avec un impact économique majeur. À long terme, ce travail pourrait ouvrir de nouvelles voies de développement de médicaments visant à limiter l'inflammation et l'infection pour la médecine humaine et vétérinaire, contribuant ainsi à la résilience face aux menaces zoonotiques et aux stress environnementaux à l'échelle mondiale.

Mots-clés: STING, One-Health, polluants, infection, inflammation immunité

Développement de biomédicaments couplés à des matrices biosourcées à activité intrinsèque pour la prévention d'infections

Héloïse ROBINEAU – Encadrantes : Leslie Boudesocque-Delaye et Anne Di Tommaso

Equipe SIMBA, Université de Tours et Equipe BIOMAP, UMR INRAE ISP, INRAE, Université de Tours

La résistance aux antimicrobiens est un problème de santé publique présent à l'échelle mondiale et associé à plus de 6 millions de décès en 2019. Dans ce cadre, des alternatives thérapeutiques sont développées selon deux approches distinctes : cibler le pathogène ou moduler le microbiote. Ce **projet disruptif** vise à combiner ces deux approches : (i) **développer et évaluer l'activité d'un cocktail d'anticorps monoclonaux neutralisants (NAb) qui sera stabilisé et formulé** (ii) **dans une nouvelle classe de matrice biosourcée** (Mixture of Natural Compounds ou **MiNaC**) qui a la capacité de **moduler le microbiote** dans lequel se trouve le pathogène. Ce projet s'inscrit également de façon originale et ambitieuse dans une **démarche d'éco-conception** et de recherche soutenable en lien avec les **objectifs 2030 de l'ONU**, visant une meilleure santé pour tous, des **innovations durables** et un mode de consommation durable. Comme **preuve de concept**, la bactérie pathogène ***Streptococcus agalactiae***, principale cause de **méningites néonatales**, a été sélectionnée. La littérature révèle que le microbiote vaginal des femmes enceintes porteuses de *S. agalactiae* présente une moindre proportion d'espèces de *Lactobacillus* essentielles au maintien d'un environnement vaginal sain. De plus, il a été démontré que la **prophylaxie antibiotique intrapartum**, telle que celle utilisée contre *S. agalactiae*, modifie les microbiomes des femmes enceintes et de leurs nouveau-nés. Dans ce contexte, notre projet poursuit deux objectifs : (i) développer un MiNaC éco-conçu capable de rétablir l'équilibre du microbiote dysbiosique par sa composition ; et (ii) l'utiliser comme matrice dans laquelle un cocktail de NAb ciblant des adhésines majeures du pathogène serait stabilisé à température ambiante le temps d'être libéré. Cela permettrait de **prévenir la transmission materno-fœtale de ce pathogène** via le blocage de la colonisation et de la multiplication chez la mère porteuse de la bactérie.

Mots-clés : NES, anticorps neutralisants, prévention, modulation du microbiote, infections récidivantes

Interféron de type I et autre voies biologiques impliquées dans les infections par *Mycobacterium tuberculosis* et le SARS-CoV-2 dans l'environnement alvéolaire.

Vincent VILLAIN^{1, 2}, Aude REMOT¹, Sébastien EYMEUX²

¹ Unité Infectiologie Santé Publique, INRAE, Université de Tours,

² INSERM U1259, Morphogenèse et Antigénicité du VIH, des Virus des Hépatites et Émergents, Université de Tours, France

Mycobacterium tuberculosis (Mtb) est l'agent étiologique de la tuberculose (TB), une maladie infectieuse pulmonaire responsable de millions de cas et plus d'un million de mort en 2022. Lors de l'infection, le pathogène atteint l'espace alvéolaire où résident ses principales cellules cibles, les cellules épithéliales et macrophages pulmonaires. L'OMS estime qu'un quart de la population est infectée par Mtb sous forme de TB latente. Une réactivation de la maladie peut survenir lors d'une baisse du système immunitaire, celle-ci peut être déclenchée par plusieurs facteurs, dont une infection par un autre pathogène. Le SARS-CoV-2 est un betacoronavirus responsable de la COVID-19, une maladie respiratoire. Pendant la pandémie de COVID-19, de nombreuses recherches ont mis en avant les multiples co-infections SARS-CoV-2 et Mtb. Les patients co-infectés présentent une aggravation des symptômes respiratoires qui peut s'avérer fatale. Mtb et SARS-CoV-2 présentent une physiopathologie différente, mais partagent un tropisme commun pour les alvéoles pulmonaires et interagissent probablement dans ce site. L'équipe a mis au point modèle d'explants de poumon humain (PCLS) pour étudier les premières étapes de l'infection par Mtb et SARS-CoV-2. Les infections *ex vivo* se déroulent dans un micro-environnement pulmonaire préservé et fonctionnel. Les protocoles ont été établis pour observer les agents pathogènes intracellulaires infectant différents types de cellules et pour vérifier leur impact sur l'architecture subcellulaire, à l'aide de technique d'imagerie confocale et de microscopie électronique à transmission (TEM).

Mon projet de thèse comporte trois objectifs principaux. Il s'agit 1) d'élucider la contribution cellulaire à l'infection par Mtb et SARS-Cov-2, 2) d'identifier les voies pathologiques déclenchées par les infections par Mtb et SARS-Cov-2 dans les alvéoles, et 3) comprendre les interactions entre ces deux agents pathogènes.

Une meilleure compréhension de la manière dont la co-infection modifie l'évolution des deux pathologies pourrait améliorer la prise en charge médicale des patients dans les zones de forte endémie tuberculeuse où les mesures barrières et les vaccins sont moins accessibles pour prévenir la transmission du SARS-CoV-2.

Posters

(Numérotation par session et ordre alphabétique)

Session Neurosciences

P1- Development of original [¹⁸F]-PET radiotracers targeting neurodegenerative diseases.

M.BRISARD¹, M. Michel¹, J. Vercouillie², H. Boutin², S. Routier¹, F. Buron¹

P2- Effets d'un mélange de pesticides SDHI sur la prolifération des cellules souches neurales murines in vitro.

Antoine TRUFFIER^{1,2}, Vanessa LARRIGALDIE¹, Flora REVERCHON^{1,2}, Stéphane MORTAUD^{1,2}

Session Biomédicaments

P3- MicroRNA decondensation from intracytoplasmic condensates: A New Strategy to Improve Glioblastoma Biotherapy.

Elizaveta GAIAMOVA, Patrick BARIL

P4- Nanobodies anti-OGG1, développement d'un outil thérapeutique ciblant la réparation de l'ADN.

Ana GIL QUEVEDO^{1,2}, Virginie GAUDON¹, Franck COSTE¹, Eric REITER³ & Bertrand CASTAING¹

P5- Cystatin M/E, Cathepsin V and Asparaginyl Endopeptidase: New actors of the proteolytic balance in lung fibrosis.

Baptiste RILGOUX, Alexis David^a, Rania Allouche^a, Clémentine Lebouché^a, Lise Vanderlynden^a, Fabien Lecaille^{a,b}, Sylvain Marchand Adam^{a,c}, Gilles Lalmanach^{a,b} and Ahlame Saidi^a

Session Infectiologie

P6- Focus sur le système de sécrétion de type VII : expression hétérogène chez *Streptococcus agalactiae* .

Victoria GERBER¹, Camille Pétillon, Anne-Sophie Renous, Philippe Lanotte^{1,2}, Laurent Mereghetti^{1,2} et Eric Morello¹

P7 - Identification of a potential target of the CiaRH-dependent small RNA Srn024 in the pathogen *Streptococcus agalactiae*.

Nadège LEPINE^{1,2}, Emilie Camiade², Marie-Frédérique Lartigue^{1,2}

P8- Production of bivalent HBV-HCV vaccine particles using the PLC/PRF/5 hepatoma cell line genetically modified by CRISPR/Cas9 technology.

Rana MANSOUR, Elodie Beaumont^{a*} and Philippe Roingeard^a

P9 - Comprehensive analysis of immune responses to mRNA-based vaccines.

MONTERO DIAZ Katia Lizeth^a, PARENT Christelle^a, JULLEMIER Magali^b, LAROUÏ Nabila^b, PICHON Chantal^b, HEUZE-VOURC'H Nathalie^a and SECHER Thomas^a

P10- Découverte d'une ligne de défense inédite : caractérisation d'une nouvelle famille d'antibiotiques.

L. MOUTARDIER^{1,2}, E. Eddebbarh^{1,2}, J. Petriguet², E. Camiade¹

P11- Synthesis of 1,3-oxazole-2-thione and 1,3-oxazoline-2-thione derivatives for selective DC-SIGN recognition and arbovirus replication.

Carla Jasmine OLIVEIRA E SILVA^{a,c}, Ronaldo Nascimento de Oliveira^{b*}, Arnaud Tatibouët^{a*}

Session Entomologie

P12- Une diversité insoupçonnée : distribution des alcaloïdes nicotiniques dans les venins de fourmis *Stenammini*.

VANDENBROUCKE-MENU Eva^{1,*}, DURAND Mickaël¹, BESSEAU Sébastien¹, COURDAVAULT Vincent¹, BIRER-WILLIAMS Caroline¹

Session Agrobiologie, Biodiversité / Biologie Végétale

P13- Characterization of Cytochrome P450 and OMT Genes Involved in Alkaloid Biosynthesis in *Tabernaemontana divaricata*.

Victor Jesulayomi BAMISAYE, Sébastien Besseau, Mickaël Durand, Johan De Craene, Vincent Courdavault

Session Immunologie / Cancer

P14- Selective extraction of Triclosan using hybrid particles based on molecularly imprinted polymers: Tools for environmental and health risk monitoring.

Magdalena ANDELINI¹, Roba Zein^{1,2}, Bérengère Claude¹, Alexandra Launay¹, Benoît Cagnon², Valérie Bertagna², Christine Vautrin-UI², Reine Nehmé¹

P15- Chemical Synthesis of EGF-like domains of the MUC4 glycoprotein.

Vincent Aucagne – Carlo Pifferi – Victor LAPOINTE

P16- NLRP6 is a key player in mouse pulmonary fibrosis through activation of the pyroptotic caspase-3/gasdermin E pathway in lung epithelial cells.

Yves-Marie MAGAT¹, Léa Clément¹, Ana Kujavec¹, Dorian De Moura Rodrigues¹, Sandra Carignon¹, Khadija Ben Hassem¹, Marc Le Bert¹, Bernard Ryffel¹, Valérie Quesniaux¹, Aurélie Gombault¹, Remo Castro Russo², Nicolas Riteau^{1,3}, Isabelle Couillin¹.

Session thématiques libres

P17- Etude des vésicules extracellulaires relarguées par le greffon rénal lors de la période d'ischémie froide : biomarqueurs potentiels de la reprise de fonction.

Marylou PICHONNIERE^{1,2}, Thomas DURET¹, Pierre BOULARD³, Audrey HERAUD¹, Justine GAINCHE¹, Mohammed ELMALLAH¹, Philippe GATAULT^{1,2,4}, Sébastien ROGER^{1,2}

P18– Identification and characterization of new transcription factors regulated by a filamentous self-assembly mechanism.

A.MATEO¹, F.Coste¹, R. Cepa¹, S. Goffinont¹, L. Mance¹, M. V. Staller^{II,III,IV}, A. G. Wróbel^V, B. Castaing¹, M.J. Suskiewicz¹

P19– Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des mécanismes d'action des phytocannabinoïdes dans la peau.

Océane QUIN, Arielle NZOUSSI LOUBOTA, Fabienne FASANI, Clara DELIMESLE, Maïlys SAUVEGRAIN, Catherine GRILLON

P20 – Crystallization of Human SUMO1 via Fusion Protein Crystallization.

Aanchal MISHRA^{1,2}, Stéphane Goffinont¹, Franck Coste¹, El Hadji Cisse¹, Lucija Mance^{1,2}, Bertrand Castaing^{1,2}, Marcin J. Suskiewicz^{1,2}

Hors Filière Ecole Doctorale

P21 - Evolution of CYP71D as a driving force of the diversification of monoterpene indole alkaloid biosynthesis in Gentianales.

Sébastien BESSEAU¹, Mickael Durand¹, Duchesse-Lacours Zamar¹, Enzo Lezin¹, Louis-Valentin Méteignier¹, Caroline Birer Williams¹, Christelle Dutilleul¹, Thomas Perrot¹, Arnaud Lanoue¹, Audrey Oudin¹, Nicolas Papon², Georges Massiot³, Chao Sun⁴, Benoit St-Pierre¹, Vincent Courdavault¹

P22 - Tracing the Origin and Evolution of Secondary Metabolite Biosynthesis Pathways in Fungi.

Baptiste Bidon ^{a,b}, Hajar Yaakoub ^{a,c}, Arnaud Lanoue ^d, Antoine Géry ^e, Virginie Séguin ^e, Florent Magot ^d, Claire Hoffmann ^{f,g}, Vincent Courdavault ^d, Jean-Philippe Bouchara ^a, Jean-Pierre Gangneux ^{h,i}, Jens C. Frisvad ^j, Antonis Rokas ^{k,l}, Gustavo H. Goldman ^m, Gilles Nevez ^{f,g}, Solène Le Gal ^{f,g}, Domenico Davolos ⁿ, David Garon ^e, Nicolas PAPON ^a

P23 - Optimisation de la surexpression des terpènes synthases chez *Nicotiana benthamiana*.

CHASSIN Camille¹, MARTINELLI Laure¹, DURAND Mickaël¹, BIRER-WILLIAMS Caroline¹, OUDIN Audrey¹, BESSEAU Sébastien¹, COURDAVAULT Vincent¹

P24 - The impact of immunosuppressants on the biology of *Aspergillus fumigatus*, a major fungal pathogen.

Anne Donnars ^{a,b}, Perrine Hauet ^a, Rose-Anne Lavergne ^c, Florent Morio ^c, Géraldine Leman ^a, Charlotte Godon ^a, Anaïs Hérivaux ^a, Hélène Guegan ^{d,e}, Claire Hoffmann ^{f,g}, Benoit Briard ^h, Guillaume Desoubieux ⁱ, Jacques Guillot ^{j,a}, Jean-Pierre Gangneux ^{d,e}, Cécile Vigneau ^{d,e}, Jean-Paul Latgé ^a, Sébastien Bertout ^k, Jean-Philippe Bouchara ^a, Solène Le Gal ^{f,g}, Gilles Nevez ^{f,g}, Caroline Deshayes ^a, Nicolas Papon-^a

P25 - Through the Eyes of MIAs: Single-Cell and Omics Insights.

Mickaël Durand, Duchesse Zamar, Enzo Lezin, Sébastien Besseau and Vincent Courdavault

Eva Vandenbroucke-Menu, Mickael Durant, Sébastien Besseau, Caroline Birir-Williams & Vincent Courdavault

P26- Differential effects of voriconazole and posaconazole on macrophage antifungal activity against *Scedosporium apiospermum*.

Dorra ELHAJ MAHMOUD^a, Jean-Charles JOUHANNEAU^a, Bienvenue RAZAFIMANDIMBY^a, Pascale PIGNON^{b,c}, Perrine HAUET^a, Nathalie CLEMENT^a, Charlotte GODON^a, Yves DELNESTE^{b,c}, Jean-Phillipe BOUCHARA^a, Nicolas PAPON^a

P27- Apport d'une enquête environnementale suite à un cas de scédosporiose chez un chat.

FAJLOUN Faraj¹, Bitar Rita², Blumstein Philippe², Soetart Nicolas³, Cordier Pierre², Sanchez Maria Dolores^{1,2}, Razafimandimby Bienvenue¹, Bensignor Emmanuel^{2,4}, Bouchara Jean-Philippe¹, Guillot Jacques^{1,2}

P28- Marine Drug Biodiscovery and Production: Emerging Synthetic Biology Perspectives.

Charlotte GODON^a, Laure Martinelli^b, Camille Chassin^b, Sébastien Besseau^b, Olivier P. Thomas^c, Vincent Courdavault^b, Nicolas Papon^a

P29- Association between mycophenolic acid treatment and infection with specific strains of *Pneumocystis jirovecii* in solid organ transplant recipients in France and Switzerland: a multicentre, retrospective, cross-sectional study.

Claire V Hoffmann^{a,b}, Yannick Le Meur^{c,d}, Marie-Christine Moal^c, Anne Grall-Jézéquel^c, Nathan Le Nan^b, Nicolas Papon^e, Gilles Nevez^{a,b}, Solène Le Gal^{a,b} on behalf of the *Pneumocystis* IMPDH Study Group

P30- Identification of an orphan family involved in nymphose of *Nasonia vitripennis*.

Charlotte Lécureuil^{1*}, Christine Almunia², Vanessa Guérin¹, Jean Armengaud², Thierry Moreau³, Sophie FOUCHÉCOURT⁴

P31- Extracellular iron uptake: new target for combating infections caused by the fungus *Scedosporium apiospermum*.

Alixia Péant^a, Julie Guiblin^a, Charlotte Godon^a, Nicolas Papon^a, Jean-Philippe Bouchara^a, Anaïs HERIVAUX^a

P32- Alkaloids Now: Engineering Yeast with Metabolic Strategies.

Thomas Perrot¹, Thomas Perrot¹, Gregory Guirimand¹, Natalja Kulagina¹, Ana-Luisa Lopez Vazquez¹, Sébastien Besseau¹ and Vincent Courdavault¹

P33- Optimization of the genome editing CRISPR-Cas9 technology in *Scedosporium apiospermum*

Kévin Ravenel^a, Wilfried Poirier^a, Bienvenue Razafimandimby^a, Jean-Philippe Bouchara^a, Amandine Gastebois^a, and Sandrine Giraud^{a*}

RESUMES DES POSTERS

Development of original [^{18}F]-PET radiotracers targeting neurodegenerative diseases

M.BRISARD¹, M. Michel¹, J. Vercouillie², H. Boutin², S. Routier¹, F. Buron¹

1 Institut de Chimie Organique et Analytique (Université d'Orléans, UMR 7311, Rue de Chartres, 45067 Orléans, France)

2 iBrain (Université de Tours, UMR 1253, 10 Bd Tonnellé, 37032 Tours, France)

In the past decades, most research has been focused on the development of molecular probes targeting the central nervous system (CNS) and more particularly the neuroinflammation. Neuroinflammation is the main and early physiological process implicated in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD) and amyotrophic lateral sclerosis (ALS). According to the 2016 World Health Organisation (WHO) report, the number of affected people could triple by 2050 as a result of population ageing. Consequently, this proves the urge about the development of new tools permitting to visualise the progression of neuroinflammation in neurodegenerative disorders.

Currently, several targets have been listed to be involved in the neuroinflammation phenomenon and have been the centre of attention of clinicians. Lately, tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) has been discovered as a new interesting target taking place in the kynurenine pathway. This enzyme catalyses the first and limiting step tryptophan's conversion into kynurenine which leads to the secretion of neurotoxic species. To date only two ^{18}F PET tracers could be potential candidates on TDO toward PET imaging application but remain untested on humans. However, no ^{18}F radioligands have been placed on the market yet. Consequently, the search of new ^{18}F radiotracers remains essential.

Thanks to literature results our team explored structure-activity relationships through the synthesis of references and analogues and their biological evaluation. Our team is currently providing novel fluorinated indoles and analogues with optimised synthetic routes. Among the 25 tested molecules, one of them have shown promising inhibition effects with high activity and selectivity for TDO toward the Indoleamine 2,3-dioxygenase. The preliminary radiosynthesis attempts starting from a pinacol borane precursor allowed us to prepare the desired radiolabelled tracer in 60 min with a satisfying molar activity but low radiochemical yield (6 %). Some optimisation of the radiosynthesis conditions are currently under review for a forthcoming automated process.

Mots-clés : chimie médicinale, synthèse organique, radiochimie, chimie hétérocyclique

Effets d'un mélange de pesticides SDHI sur la prolifération des cellules souches neurales murines in vitro

Antoine TRUFFIER^{1,2}, Vanessa LARRIGALDIE¹, Flora REVERCHON^{1,2}, Stéphane MORTAUD^{1,2}.

¹ CNRS, Laboratoire Immuno-Neuro Modulation (INEM), UMR7355, 3b rue de la Ferrollerie, 45071 Orléans, France

² Université Orléans, 1 rue de Chartres, 45100 Orléans

Les inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHI) sont des fongicides largement utilisés en agriculture, pour le stockage de fruits, légumes et graines, ainsi que dans les jardins domestiques. Très stables, ils persistent plusieurs mois dans l'environnement.

Leur mode d'action cible la succinate déshydrogénase (SDH, complexe II mitochondrial), fortement conservée de la levure à l'homme. Plusieurs études montrent que les SDHI manquent de spécificité et peuvent altérer l'activité mitochondriale chez des espèces non ciblées, notamment lombrics, abeilles et mammifères, y compris l'homme (Bénit et al., 2019 ; Bouly et al., 2024 ; Duarte Hospital et al., 2025). Malgré les inquiétudes, les effets neurotoxiques potentiels restent largement méconnus, alors que la neurogenèse dépend du métabolisme mitochondrial (Khacho & Slack, 2018).

Notre laboratoire étudie un mélange de pesticides reproduisant une formulation industrielle réaliste, combinant deux SDHI (bixafène et fluopyram) et un triazole non -SDHI (prothioconazole). L'objectif est d'évaluer leurs effets sur le développement cérébral via un modèle in vitro de cultures primaires de cellules souches neurales murines en monocouche 2D.

Les résultats préliminaires suggèrent que ce mélange perturbe la prolifération des cellules souches neurales, indiquant un effet délétère potentiel sur le développement du système nerveux. Ces travaux visent à améliorer l'évaluation des risques liés aux SDHI et à comprendre les mécanismes impliqués, d'abord au niveau cellulaire, puis à l'échelle du système nerveux central.

Mots-clés: pesticide, mitochondrie, neurotoxicité

MicroRNA decondensation from intracytoplasmic condensates: A New Strategy to Improve Glioblastoma Biotherapy

Elizaveta GAIAMOVA, Patrick BARIL

Université d'Orléans, Université de Tours, CNRS, CBM, UPR4301, Orléans, France

Introduction. Glioblastoma is a highly aggressive brain tumor, characterized by strong resistance to treatment and absence of effective cure. MicroRNA-based therapy shows promise, but its efficacy is in part limited by the sequestration of therapeutic microRNA oligonucleotides in cytoplasmic vesicles called condensates, like P-bodies. Our team previously demonstrated that therapeutic microRNAs delivered to glioblastoma cells partially accumulate in P-bodies, likely hindering their biological and therapeutic functions."

Aim. Evaluate the therapeutic benefit of small molecules (c-mods) capable to de-condense microRNAs oligonucleotide from biomolecular condensates. To reach such this objective, we first devote a program of work to elucidating the molecular mechanisms governing the trafficking and assembly of transfected microRNAs into condensates within glioblastoma cells.

Results. During my first PhD year, I established two stable U87MG glioblastoma cell lines expressing constitutively either the P-body marker DCP1a or the stress granule marker G3BP1, both fused to GFP reporter gene for confocal imaging of P-body and stress granule formation and assembly. Using the U87MG DCP1a-GFP cell line and 8 different transfection reagents, we demonstrated that the condensation and activity of microRNAs within P-bodies depend on the physical properties of the transfection reagent used. Using the most efficient transfection reagent, we established the kinetic of microRNA assembly and disassembly in P-bodies and revealed a trend of correlation between microRNA activity and their sequestration in P-bodies. These results were further supported by the observation that de-assembly of P-bodies using siRNA-directed against a scaffold protein, known to be essential for formation of P-bodies, led to an increase in the activity of transfected microRNA in glioblastoma cells. We are currently purifying P-bodies from our U87MG DCP1a-GFP cell line by Fluorescence-Activated Particle Sorting (FAPS) method with objective to identify candidate proteins responsible for microRNA condensation.

Conclusion. Our first result brought a series of first experimental evidence that sequestration of synthetic microRNA oligonucleotides in P-bodies of glioblastoma cells is detrimental for their therapeutic activity.

Mots-clés : Glioblastoma, microRNA, condensates, P-body

Nanobodies anti-OGG1, développement d'un outil thérapeutique ciblant la réparation de l'ADN

Ana GIL QUEVEDO^{1,2}, Virginie GAUDON¹, Franck COSTE¹, Eric REITER³ & Bertrand CASTAING¹

¹Centre de Biophysique Moléculaire, UPR4301 CNRS, Orléans

²Ecole doctorale ED549 SSBCV, Université d'Orléans

³UMR PRC, equip BIOS, INRAE, Nouzilly

La 8-oxoguanine (8-oxoG), produit majeur de l'oxydation des purines, est une lésion de l'ADN à haut potentiel mutagène. L'enzyme OGG1, via le système de réparation par excision de base (BER), répare ce dommage par son activité ADN *N*-glycosylase. Des études récentes proposent que OGG1 est une cible pertinente dans le cancer, en particulier dans le cancer de sein triple-négatif. Ces découvertes poussent la recherche vers des petites molécules inhibitrices de OGG1 (OGGi), déjà en développement. A ce stade des connaissances, les effets hors-cibles des OGGi compromettent l'approche anticancéreuse. Mon équipe propose de cibler OGG1 par des fragments d'anticorps de type nanobody (ou VHH/Nb), leur petite taille et leur grande spécificité pourrait permettre de contourner ces difficultés. Mon projet de thèse consiste à (i) isoler par « phage display » les premiers Nb anti-OGG1 à partir d'une banque de phages synthétiques, (ii) évaluer la caractérisation des Nb résultants *in silico* et *in vitro* sur l'activité de OGG1 et (iii) tester les effets de ces Nb modulateurs dans des lignées cellulaires puis dans des cellules primaires dans le but de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques. A ce stade du projet, des Nbs candidats sélectionnées *in silico* à partir des données de séquençage NGS de la banque de phage enrichie ont été produits et purifiés. L'effet des Nb purifiés sur la fonctionnalité de la protéine OGG1 sont en cours d'analyse.

Mots-clés : Stress oxydatif, 8-oxoguanine, Réparation de l'ADN, OGG1, Nanobody (VHH),
thérapie anticancéreuse

Cystatin M/E, Cathepsin V and Asparaginyl Endopeptidase: New actors of the proteolytic balance in lung fibrosis

Baptiste RIGOUX^a, Alexis David^a, Rania Allouche^a, Clémentine Lebouché^a, Lise Vanderlynden^a, Fabien Lecaille^{a,b}, Sylvain Marchand Adam^{a,c}, Gilles Lalmanach^{a,b} and Ahlame Saidi^a

^aINSERM, UMR1100, Research Center for Respiratory Diseases (CEPR), Team " Proteolytic enzymes and their pharmacological targeting in lung diseases ", Faculty of Medicine, University of Tours, Tours, France.

^bDepartment of Biochemistry, Faculty of Sciences and Techniques, University of Tours, Tours, France.

^cThe University Hospital Center of Tours (CHRU Tours), Pulmonology Department, Tours, France.

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a chronic and lethal disease characterized by irreversible fibrous thickening in the interstitial spaces of the lung. Alterations in alveolar epithelia induce TGF- β 1-dependent differentiation and proliferation of fibroblasts into myofibroblasts. Extracellular matrix (ECM) overproduction by myofibroblasts causes a dysregulated remodeling in fibrotic foci, associated with an altered proteolytic balance.

Among proteases involved, some cysteine cathepsins are potent collagenases and elastases participating in ECM remodeling. During IPF, the cathepsin/cystatin (i.e., their endogenous inhibitors) balance is impaired in favor of cystatins; especially, the secretion of human Cystatin C (hCC), a fibrotic biomarker, is upregulated during myodifferentiation, promoting collagen deposition.

In addition, expression levels of both fibronectin and elastin are altered during fibrogenesis. Accordingly, this led us to investigate the involvement of Cathepsin V (CatV, the most potent human elastase) and Legumain (LGMN) (a.k.a., Asparaginyl endopeptidase) in ECM degradation and of Cystatin M/E (CysM) (a dual tight-binding inhibitor of both enzymes) in the differentiation of human lung fibroblasts. Increased expressions of LGMN and CysM were observed in lung biopsies (n=26) and bronchoalveolar lavage fluids (n=18) from patients with IPF, while CatV decreased. Similar transcriptional and translational regulations were found in a model of TGF- β 1-dependent myodifferentiation (human lung primary fibroblasts).

Deciphering molecular mechanisms sustains that the overproduction of CysM (besides hCC) could mitigate enzymatic activities of CatV and LGMN. Consequently, impairment of the proteolytic balance during myofibrogenesis leads to the buildup of fibronectin and elastin, promoting ECM deposition and fibrotic phenotype.

Mots-clés : Matrice extracellulaire, Protéases à cystéine, Cystatines, Fibrose pulmonaire, myofibroblastes

Focus sur le système de sécrétion de type VII : expression hétérogène chez *Streptococcus agalactiae*

Victoria GERBER¹, Camille Pétilon, Anne-Sophie Renous, Philippe Lanotte^{1,2}, Laurent Mereghetti^{1,2} et Eric Morello¹

1 ISP, Université de Tours, INRAe, UMR1282, équipe BRMF, F-37032 Tours, 2 CHRU de Tours, Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, F-37044 Tours

Le système de sécrétion de type VII (SST7) est un complexe multiprotéique transmembranaire caractérisé chez les bactéries Gram-positif, qui est impliqué dans la compétition inter-bactérienne et/ou la virulence à travers la sécrétion de protéines spécifiques dans l'environnement. *Streptococcus agalactiae*, ou Streptocoque du Groupe B (SGB), est l'une des principales causes d'infections néonatales. L'expression du SST7 pourrait être l'un des multiples mécanismes d'adaptation utilisés par ce pathogène opportuniste face aux diverses niches qu'il rencontre. Des études récentes ont démontré qu'une hétérogénéité du locus du SST7 existait entre des souches de SGB, proposant l'existence de quatre sous-types de ce système. Nos travaux mettent en évidence une organisation transcriptionnelle hétérogène du SST7 entre les différentes souches de SGB. Les gènes des quatre sous-types du SST7 sont exprimés dans des conditions conventionnelles de culture en laboratoire et présentent une organisation de type opéron, avec, selon le sous-type, deux régions promotrices actives identifiées. La présence d'une potentielle modulation de l'expression des gènes du SST7 dans divers environnements (ex : fluides biologiques humains) sera étudiée au cours du projet. Notre travail démontre également l'existence d'une hétérogénéité au niveau traductionnel. L'objectif est d'identifier l'impact de la variabilité génétique sur le fonctionnement global du SST7. Ainsi, selon différents contextes génétiques (ex : délétion totale du locus SST7), des effecteurs potentiels du SST7 seront prochainement identifiés par une approche protéomique globale.

L'ensemble de ces résultats permettra de mieux caractériser le SST7. Ceci pourrait ainsi améliorer la compréhension de la variabilité de colonisation des microbiotes résidents par différentes souches de SGB.

Mots-clés : système de sécrétion de type VII – expression – *Streptococcus agalactiae*

Identification of a potential target of the CiaRH-dependent small RNA Srn024 in the pathogen *Streptococcus agalactiae*

Nadège LEPINE ^{1,2}, Emilie Camiade ², Marie-Frédérique Lartigue ^{1,2}

1 Service de Bactériologie – Virologie – Hygiène hospitalière, CHRU de Tours, Tours, France

2 UMR 1282 Université-INRAE, Équipe “Bactéries et risque materno-foetal”, Tours, France

Two-component systems (TCS), including CiaRH, allow *Streptococcus agalactiae* to adapt to its environment. CiaRH regulates multiple genes, some of which encode small RNAs called CiaRH-dependent small RNAs (csRNAs). The most highly expressed is Srn024. Its targets remain to be investigated. *In silico* predictions have already identified *mscL* mRNA as a potential Srn024 target. In *Escherichia coli*, MscL is a mechanosensitive channel that opens in response to sudden shifts of osmolarity. Some studies suggest that MscL serves as an entry gate for antimicrobials into the bacterium. The function of MscL remains unknown in *S. agalactiae*. This study aimed to experimentally confirm the Srn024 regulation of *mscL* and characterize the role of MscL in *S. agalactiae*.

The MscL reporter was constructed by cloning the beginning of the *mscL* gene, including the ribosome binding site (RBS) and the start codon, in-frame and upstream of *lacZ* reporter gene in a vector called pNJE2::*mscL*. MscL reporter expression was twofold higher in Δ *srn024* than in the wild-type (WT) strain, confirming Srn024 posttranscriptionally downregulates *mscL*. Mutations in the predicted interaction region abolished this regulation.

To investigate the function of MscL in *S. agalactiae*, we performed phenotypic tests. For osmotic shock assays, bacteria were cultured in Todd-Hewitt (TH) medium. They were transferred in hyper- or hypo-osmotic medium and incubated at 37°C from 5 to 20 minutes. Next, the bacterial suspensions were serially diluted before being spotted onto TH plates to calculate the survival rates. The hyperosmotic medium was obtained by complementing TH with 0.1 to 1M NaCl. Sterile water was used as the hypoosmotic medium. Osmotic shock assays showed no difference in survival between WT and *mscL*-deleted (Δ *mscL*) strains.

MICs were measured on 96-well microplates. Compared with WT, the susceptibility of Δ *mscL* to different antibiotics, such as penicillin, erythromycin or streptomycin, remained unchanged. These findings suggest a regulatory role of Srn024 in *mscL* translation, which contributes to understand the csRNA-mediated regulation in *S. agalactiae*. However, the function of MscL in this bacterium is still unclear.

Mots-clés : Two-component system – CiaRH – small RNAs – Srn024 – mechanosensitive channel

Production of bivalent HBV-HCV vaccine particles using the PLC/PRF/5 hepatoma cell line genetically modified by CRISPR/Cas9 technology

Rana MANSOUR^a, Elodie Beaumont^{a*} and Philippe Roingeard^{a*}

^a INSERM U1259 MAVIVHe, Université de Tours

Globally, 50 million people are living with hepatitis C and 1 million new infections with HCV occur per year. A great advancement in the fight against hepatitis C was achieved thanks to the introduction of direct-acting antivirals. These drugs, however, do not prevent re-infections or progression to severe liver disease and cancer. Moreover, only a small fraction of infected individuals is diagnosed and treated. WHO estimates that only 36% of people living with hepatitis C had been diagnosed between 2015 and 2022, and 20% had received curative treatment. Therefore, a prophylactic vaccine is still a pressing global need¹.

In accordance with this, our research unit has developed an original vaccination strategy based on particles similar to those used to vaccinate against hepatitis B virus (HBV), but additionally bearing full-length genotype 1a HCV envelope proteins (E1 and/or E2)^{2,3}. Produced in hamster ovary cells (CHO cell line), these chimeric HBV-HCV particles induce the production of antibodies against both the HBV and HCV envelope proteins in vaccinated animals. Interestingly, some of these antibodies efficiently neutralize in vitro infections by heterologous HCV strains of different genotypes, but in a genotype-dependent manner^{3,4}.

Our objective now is to improve the presentation of the HCV envelope glycoproteins on the surface of the vaccine particles to increase their immunogenicity and the inter-genotypic neutralizing properties of the antibodies induced by vaccination. To do that, we will consider that HCV interacts with cellular lipid metabolism, associates with lipid components, and circulates in the form of lipo-viro-particles (LVPs)⁵ which present neutralizing epitopes on their surface in an extremely complex configuration^{6,7}. It is the faithful reproduction of these key antigenic regions that constitutes a real challenge for the development of a vaccine against HCV. The production of our vaccine particles thus is limited by the nature of the producing cells used, the CHO cell line being metabolically distant from differentiated hepatocytes.

In this project, we propose to modify our production system and use the PLC-PRF-5 hepatoma cell line that is known for its efficient expression and secretion of the HBV S protein^{8,9}. We will genetically modify this cell line using CRISPR/Cas9 technology, to also express our immunogens of interest (E1-S and/or E2-S). Humoral immune responses induced following vaccination with particles produced by our different production systems (CHO and PLC-PRF-5) will be compared in a pre-clinical animal model.

This new production method should permit an immunogen presentation that resembles the one observed during natural infection, and the induction of humoral immune responses more specific to native HCV lipo-viro-particles. Ultimately, we hope that these new investigations will allow an optimization of our bivalent HBV/HCV vaccine candidate, which could efficiently and simultaneously protect against these two major hepatotropic agents, and thus strengthen the prevention of severe liver diseases, including virus-induced liver cancers.

Mots-clés: hepatitis C virus; hepatitis B virus; envelope glycoproteins; neutralizing antibodies; prophylactic vaccine; CRISPR/Cas9.

Comprehensive analysis of immune responses to mRNA-based vaccines

MONTERO DIAZ Katia Lizeth^a, PARENT Christelle^a, JULLEMIER Magali^b, LAROUÏ Nabila^b, PICHON Chantal^b, HEUZE-VOURC'H Nathalie^a and SECHER Thomas^a

^a 10 Boulevard Tonnellé, UMR 1100 - Research Center for Respiratory Diseases

^b ART ARNm, INSERM US-55 - Orleans (France)

* katia.montero-diaz@inserm.fr

Recent successes of mRNA-based vaccines against SARS-CoV-2 have confirmed the therapeutic potential of mRNA and lipid nanoparticle (LNP) formulations (1). However, these vaccines have limitations, including a short duration of immune protection requiring frequent boosters, and limited ability to prevent infection in vaccinated individuals (2–5). Mucosal mRNA administration via inhalation (intranasal or intrapulmonary) is considered as a promising strategy to enhance protection against respiratory pathogens and certain cancers. The aim of this project is to decipher the innate, adaptive, and inflammatory responses induced by mRNA vaccines developed within the RNAVAC consortium according to their route of administration, to guide the pre-selection of lead candidates.

The first objective is to evaluate the impact of LNP–mRNA formulations on primary human and murine respiratory immune cells, as well as on an epithelial cell line cultured at the air liquid interface (ALI). We will assess toxicity, inflammatory responses, and transfection efficiency using high-throughput technologies such as live cell analysis and flow cytometry, to identify promising formulations for subsequent in vivo testing.

An initial screening of five LNP–mRNA formulations encoding eGFP was performed by measuring transfection efficiency, toxicity (via LDH assay), and cytokine production (IL-1 β and IL-6). Two formulations had been select that shown the highest transfection efficiency and the lowest cytotoxicity; they are being further study to determine their ability to transfect epithelial cells in the presence or absence of mucus.

The second objective of the project using a mouse model is to describe the immune responses of the two selected formulations encoding a model vaccine according to their route of administration. The initial work aimed at evaluating toxicity within the first 24 hours across various doses and administration routes, with the objective of identifying the most promising vaccination strategy. Two dose levels have already been assessed, and no evidence of toxicity was detected.

Subsequent studies will investigate transfection efficiency in human immune cells and in co-culture model, and will further evaluate the efficacy of the vaccination in relevant animal models.

Keywords: vaccines, LNP-mRNA, mucosal, immune responses, in vitro models, in vivo models, alveolar macrophage.

Découverte d'une ligne de défense inédite : caractérisation d'une nouvelle famille d'antibiotiques

L. MOUTARDIER^{1,2}, E. Eddebbarh^{1,2}, J. Petrignet², E. Camiade¹

¹ Université de Tours/INRAe, UMR 1282 ISP, Equipe Bactéries et Risque Materno-Foetal, Tours

² Université de Tours, EA 7502 SIMBA, Tours

Face à l'émergence de souches bactériennes multirésistantes aux antibiotiques conventionnels, le développement de nouvelles thérapies antibactériennes constitue une priorité majeure de santé publique. Les phtalides sont des métabolites secondaires dont certains possèdent une activité antibactérienne telle que la cytosporone E extraite d'un champignon endophyte. La synthèse de pharmacomodulations de cette molécule a permis d'améliorer l'activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, pathogène prioritaire souligné par l'OMS. Cette étude vise ainsi à caractériser la cible de ces composés et à travailler sur les phénotypes associés à leur activité.

Concernant la première partie, nous avons pu montrer qu'une concentration sous-inhibitrice de phtalides provoquait un défaut de séparation des cellules bactériennes. Des expériences de Thermal Proteome Profiling (TPP) ont été réalisées, en collaboration avec le laboratoire CBSA de Caen, afin d'identifier la cible bactérienne. Les premiers résultats mettent en évidence trois protéines dont l'interaction avec le phtalide induit un changement significatif de leur stabilité thermique. Néanmoins, ces protéines sont exclusivement retrouvées chez *S. aureus* or nous avons pu démontrer que la cible bactérienne était présente à la fois chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

L'autre partie de ce projet consiste à caractériser les phénotypes associés à l'activité des phtalides. Nous avons pu démontrer que ces molécules avaient un spectre d'action étroit (actives contre la plupart des bactéries à Gram positif testées qu'elles soient multirésistantes ou non aux antibiotiques). De plus, des concentrations sous-inhibitrices (0,2xCMi) de certains analogues inhibent la formation de biofilms (80% d'inhibition) et présentent un effet synergique ou additionnel avec plusieurs familles d'antibiotiques (bêta-lactamines, aminoglycosides et polymyxines). Enfin, bien qu'une cytotoxicité modérée (10 µM) soit observée dans des cultures de kératinocytes et de fibroblastes humains primaires, aucune cytotoxicité n'a été détectée *in vivo* dans le modèle *Galleria mellonella*. Cette nouvelle famille d'antibiotiques offre une avancée thérapeutique prometteuse contre les infections bactériennes y compris contre les souches multirésistantes.

Mots-clés : phtalides, antibiotiques, thérapie anti-infectieuse, caractérisation de la cible, cytotoxicité

Synthesis of 1,3-oxazole-2-thione and 1,3-oxazoline-2-thione derivatives for selective DC-SIGN recognition and arbovirus replication

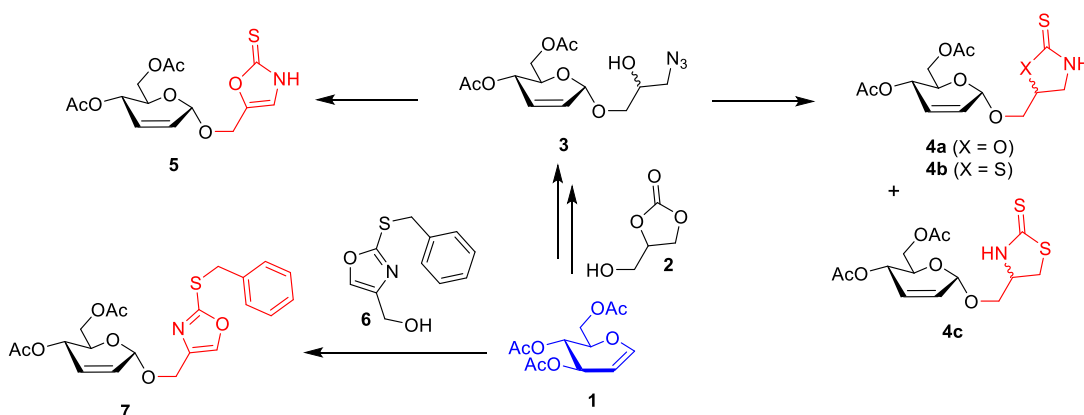
Carla Jasmine OLIVEIRA E SILVA^{a,c}, Ronaldo Nascimento de Oliveira^{b*}, Arnaud Tatibouët^{a*}

^aICOA, CNRS-UMR 7311, Université d'Orléans, Orléans, France, carla-jasmine.oliveira-e-silva@univ-orleans.fr

^bDepartment of Chemistry, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Brazil

^cDepartment of Fundamental Chemistry, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

In recent years, the increase incidence of Dengue virus (DENV), Chikungunya virus (CHIKV), and Zika virus (ZIKV) has become a major public health issue. Currently, there are no antivirals approved for the treatment of these arboviruses, only vaccines for DENV and CHIKV. The immune response begins with the recognition of pathogens by receptors. The lectin DC-SIGN is a Pattern Recognition Receptor (PRR) and can recognize simple glycans containing *D*-mannose and *L*-fucose, which are overexpressed in viruses. The aim of this work is the design of ligands able to compete with these viruses and block the recognition. Two approaches are currently developed to link a short, functionalisable three-carbon chain to a carbohydrate moiety mimicking a mannose residue (Scheme). The first one began through a Ferrier rearrangement of glucal **1** with glycerol carbonate **2**, which gave access to diastereoisomers of which a pure (*S*)- α -glycoside was isolated. Then, ring-opening of the cyclic carbonate afforded the azido-alcohol **3**. Access to 1,3-oxazolidine-2-thione proved challenging using the *S* enantiopure of **3**. Beyond the 1,3-oxazolidine-2-thione **4a**, the reaction also led to the formation of 1,3-thiazolidine-2-thiones **4b** and **4c**. On contrary, the aromatic 1,3-oxazole-2-thione **5** was prepared from an α -keto-azide, prepared by oxidizing the diastereoisomeric mixture **3**. The second approach followed the formation of the heterocycles in first place before application of the Ferrier rearrangement. As an example, the *S*-benzylated oxazole **6** was prepared in fifth steps from dihydroxyacetone and proved to be a good way to get the *S*-benzylated oxazole α -glycoside **7**.



Keywords: Arboviruses; Ferrier rearrangement; Heterocycles; DC-SIGN.

Une diversité insoupçonnée : distribution des alcaloïdes nicotiniques dans les venins de fourmis *Stenammini*

VANDENBROUCKE-MENU Eva ^{1,*}, DURAND Mickaël ¹, BESSEAU Sébastien ¹, COURDAVAULT Vincent ¹, BIRER-WILLIAMS Caroline ¹

¹ Biomolécules et Biotechnologies Végétales (UR2106), UFR de Pharmacie, Université de Tours, France

Les fourmis sont connues pour produire une grande variété de molécules chimiques grâce à différentes glandes, ces composés ayant des fonctions diverses telles que la reconnaissance coloniale, le suivi de piste, ou encore la défense face à des compétiteurs ou des prédateurs. Dans ce contexte, certaines fourmis de la sous-famille des Myrmicinae ont développé un venin à base d'alcaloïdes, molécules particulièrement décrites dans le règne végétal et utilisées à des fins thérapeutiques, mais largement inexplorées chez les fourmis. Ainsi, les voies de biosynthèse des alcaloïdes chez les fourmis sont inconnues. Les objectifs de ces travaux de thèse sont de caractériser la diversité alcaloïdique dans les venins de fourmis, particulièrement ceux de la tribu des *Stenammini*, par une étude métabolomique des glandes à venin en LC-MS/MS, et de déchiffrer l'origine biosynthétique de ces composés.

Les *Stenammini* ont la particularité de produire des alcaloïdes de la famille de la nicotine dans leur glande à venin, tels que l'anabasine ou l'anabaseine. Ces alcaloïdes nicotiniques bien connus des plants de tabac ne résultent pas d'une séquestration de composés chimiques de l'environnement. Ainsi, leur biosynthèse pourrait être propre à la fourmi, être le témoin d'un transfert horizontal de gène passé, ou être liée au microbiote intestinal des fourmis. Des fourmis collectées grâce à un projet de sciences participatives ont été disséquées afin d'identifier par LC-MS/MS ces alcaloïdes, ainsi que des précurseurs des voies de biosynthèse comme l'acide nicotinique et le nicotinamide. L'exploitation des données transcriptomiques de fourmis *Aphaenogaster senilis*, en association avec des approches moléculaires d'étude de fonction de gène, ont permis d'identifier de potentiels enzymes et gènes clés impliqués dans la biosynthèse de ces composés, notamment la transformation du nicotinamide en acide nicotique qui est une étape clé de la biosynthèse de ces alcaloïdes. Une meilleure compréhension de ces voies métaboliques pourrait permettre d'en apprendre plus sur l'écologie de ces fourmis, leur évolution et ouvrir la voie à de nouvelles molécules médicaments, comme c'est le cas pour de nombreux alcaloïdes d'origine végétale.

Mots-clés : fourmis, venins, alcaloïdes nicotiniques, métabolomique, voie de biosynthèse

Characterization of Cytochrome P450 and OMT Genes Involved in Alkaloid Biosynthesis in *Tabernaemontana divaricata*

Victor Jesulayomi BAMISAYE , Sébastien Besseau, Mickaël Durand, Johan De Craene, Vincent Courdavault

Biomolécules et Biotechnologies Végétales, EA2106, Université de Tours, Tours, 37200, France.

Tabernaemontana divaricata (Apocynaceae) is a medicinal plant known for producing pharmacologically relevant monoterpene indole alkaloids. Among them, conopharyngine is a major compound of interest due to its promising bioactivities. Conopharyngine is thought to result from the methoxylation of coronaridine. This process would most likely require 2 cytochrome P450 enzymes to add hydroxylate groups on coronaridine and 2 O-methyltransferases (OMTs) for their subsequent methylation.

To uncover candidate genes, we performed a transcriptomic analysis of *T. divaricata* to identify CYP450 and OMT candidates using sequences of characterized enzymes of the closely related species *Tabernanthe iboga*. We identified 6 close homologues of the *T. iboga* enzyme 10-hydroxylase. The corresponding genes were cloned, sequenced and transiently expressed in *Nicotiana benthamiana* after *Agrobacterium*-mediated transformation. Foliar disks of each transformed plant were incubated for 24h with different substrates and the reaction product will be analyzed by LC/MS to determine their substrate specificity.

By integrating transcriptomics, phylogenetics, and functional expression assays, this study aims to advance our understanding of MIA pathway diversification in *T. divaricata* and support future efforts to reconstruct these pathways in heterologous hosts for scalable production of medicinal alkaloids.

Keywords: *Tabernaemontana divaricata*; alkaloid; cytochrome P450; metabolic engineering; new-to-nature; conopharyngine.

Selective extraction of Triclosan using hybrid particles based on molecularly imprinted polymers: Tools for environmental and health risk monitoring

Magdalena ANDELINI¹, Roba Zein^{1,2}, Bérangère Claude¹, Alexandra Launay¹, Benoît Cagnon², Valérie Bertagna², Christine Vautrin-UI², Reine Nehmé¹

1 – Institut de Chimie Organique et Analytique, UMR 7311, Université d'Orléans - Pôle de chimie - rue de Chartres - BP 6759 - 45067 Orléans Cedex 2 - France

2 -Interfaces, Confinement, Matériaux et Nanostructures, UMR 7374, CNRS Orléans – 1b rue de la Férollerie CS 40059 45071 Orléans Cedex – France

Triclosan (TCS) is a biocidal agent present in cosmetic formulations at low levels (<0.3% m/m), according to the European Cosmetics Directive (76/768/EEC)-1986). Due to its widespread use, TCS is likely to be found in environmental waters (1.4-40000 ng/L), where it exhibits harmful effects on aquatic organisms.¹ Furthermore, TCS was detected in human biological liquids: blood (1.1-13 µg/L), urine (0.29-2.2 µg/L) and breast milk (0.02-2.2 µg/L).² Studies have shown multiple toxic effects caused by prolonged exposure to TCS, including disruption of endocrine function and lipid metabolism disorders, causing fibrosis, and even cirrhosis or liver cancer, which underlines the importance of developing reliable methods for its selective extraction and quantification in water and biological samples.^{3,4}

As part of the APR-IR POSEID'EAUX project, particles for specific extraction of TCS were developed by combining the properties of molecularly imprinted polymers (MIPs) with those of graphene (Gr) with a dual objective: sample preparation by solid-phase extraction (SPE) and *in situ* detection of TCS using an electrochemical sensor. MIP-Gr hybrid particles were synthesized via O/W emulsion polymerization, using TCS as the template molecule, alongside non-imprinted (NIP), and non-graphene controls. Solid-phase extraction assays confirmed strong selectivity of hybrid particles towards TCS, allowing repeatable preconcentration of TCS from real sample. A cross-reactivity study conducted on Triclocarban, another biocide found in cosmetics, and Diuron, a pesticide, provided insights into structural determinants of molecular recognition of molecules by MIP-Gr, and encouraged the application of TCS-specific MIP-Gr for extraction of other structurally similar molecules. Lastly, physico-chemical analyses of synthesized particles (fluorescence spectroscopy, ATR-FTIR, TGA, BET), confirmed grafting of the polymer on graphene and gave an insight into their specific surface area and thermal stability. These results demonstrate the potential of using MIP-Gr particles for selective TCS detection, supporting future development of electrochemical sensors for environmental and biomedical applications.

Keywords: Molecularly imprinted polymers (MIPs), Triclosan (TCS), graphene, solid-phase extraction.

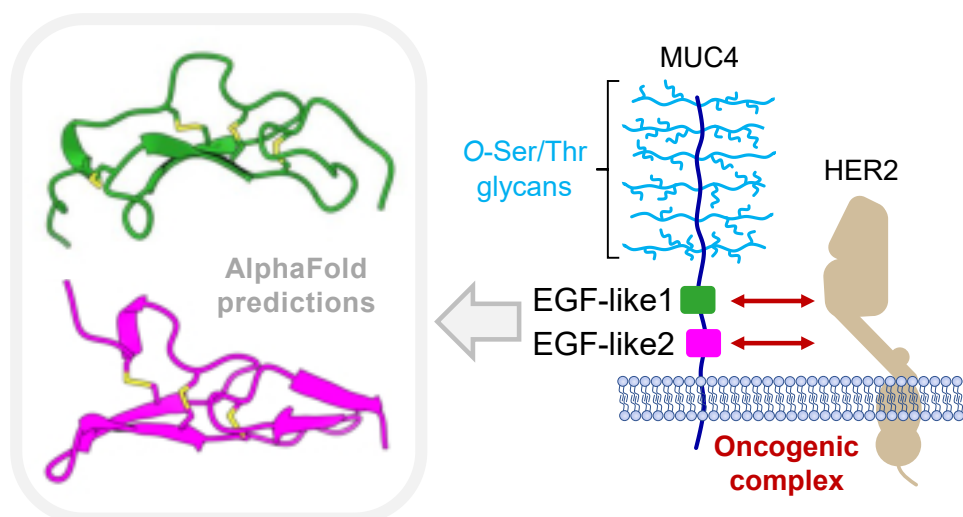
Chemical Synthesis of EGF-like domains of the MUC4 glycoprotein.

Vincent Aucagne – Carlo Pifferi – Victor LAPOINTE

CNRS/CBM UPR 4301

MUC4 is a large glycoprotein that belongs to the heterogeneous family of transmembrane mucins (TMs), which play key roles in epithelial homeostasis.¹ Their cell- and tissue-specific expression is profoundly altered in epithelial cancers, with consequences in cell signaling, cell proliferation, tumor progression and immune evasion, making TMs attractive therapeutic targets. MUC4 is overexpressed in many epithelial cancers and is widely recognized as a pro-tumorigenic protein.² Recent studies demonstrated that MUC4 interacts with the receptor tyrosine kinase HER2 (a.k.a. ErbB2), one of the most frequently overexpressed oncogenic factors, at the cell surface to form an oncogenic complex that promotes cell proliferation and migration.³ Using an integrative approach that combined biophysical, biochemical, and *in vivo* studies, Van Seuningen and co-workers demonstrated that the EGF-like domains 1 and 2 of MUC4 are responsible for the oncogenic complex formation with HER2. To investigate this, a series of GST-fusion constructs displaying either of the two domains or both, as well as mutants, were employed. Notably, no structural data are available for these domains; however, their cysteine-rich sequences suggest that they likely adopt stabilized conformations through the formation of four (EGF-like1) or three (EGF-like2) disulfide bonds.⁴

The aim of this project is to undertake the total chemical synthesis, structural, and functional characterization of both MUC4 EGF-like domains to deepen the understanding the current understanding of MUC4-HER2 protein-protein interaction, and pave the way toward the development of high-affinity ligands that could disrupt the oncogenic complex.⁵



1. Jonckheere, N. et al. (2013). *Membrane-bound mucin modular domains: From structure to function*. Biochimie.
2. Liberelle, M. et al. (2020). *EGF-Containing Membrane-Bound Mucins: A Hidden ErbB2 Targeting Pathway?* Journal of Medicinal Chemistry.
3. Stoup, N. et al. (2021). *The EGF Domains of MUC4 Oncomucin Mediate HER2 Binding Affinity and Promote Pancreatic Cancer Cell Tumorigenesis*. Cancers.
4. Wouters, M.A. et al. (2005). *Evolution of distinct EGF domains with specific functions*. Protein Science.
5. Loth, K. et al. (2019). *The ancestral N-terminal domain of big defensins drives bacterially-triggered assembly into antimicrobial nanonets*. mBio.

NLRP6 is a key player in mouse pulmonary fibrosis through activation of the pyroptotic caspase-3/gasdermin E pathway in lung epithelial cells

Yves-Marie MAGAT¹, Léa Clément¹, Ana Kujavec¹, Dorian De Moura Rodrigues¹, Sandra Carignon¹, Khadija Ben Hassem¹, Marc Le Bert¹, Bernard Ryffel¹, Valérie Quesniaux¹, Aurélie Gombault¹, Remo Castro Russo², Nicolas Riteau^{1,3}, Isabelle Couillin¹.

¹University of Orleans and French National Center for Scientific Research (CNRS), INEM-UMR7355, Orleans, France;

²Laboratory of Pulmonary Immunology and Mechanics, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

³ Immune Health Laboratory, Regulation of host responses and immune health¹ IRL2029, French National Centre for Scientific Research (CNRS) and Ribeirão Preto Medical School (FMRP) of the São Paulo University (USP), Ribeirão Preto, Brazil.

Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF) is the most common chronic and progressive interstitial lung diseases with fatal ending. Immunological processes involved remain poorly understood. Innate immune sensors such as nucleotide-oligomerization domain-like receptors (NLRs) are able to form cytosolic complexes named inflammasomes that mediate inflammatory cytokines production and immunological cell death. We and others showed that the NLRP3 inflammasome is involved in the establishment of pulmonary inflammation and fibrosis. However, the role of the NLRP6 inflammasome in IPF remains unknown. Using the experimental model of IPF through oropharyngeal administration of bleomycin (BLM), we explored NLRP6 contribution in the context of programmed cell death induced after lung injury and its consequence on lung inflammation and fibrosis. Flow cytometry analyses showed that NLRP6 deficiency dampens airway inflammation with reduced neutrophils, eosinophils, dendritic cells, T and B lymphocyte influx in the bronchoalveolar space. In addition, we observed attenuated inflammation, collagen deposition and fibrosis-related gene expression in lung tissue of NLRP6 deficient mice in comparison to WT mice. Since lung fibrosis is due to repeated injury of lung epithelium that leads to alveolar epithelial cell (AEC) death, we analyzed the mechanisms by which BLM induces AEC programmed cell death and in particular the role of gasdermin E (GSDME), known to be involved in non-conventional pyroptosis. Indeed, GSDME cleavage by activated caspase-3 was reported to be induced by anti-tumor drugs promoting pyroptotic cell death of cancer cells and activation of immune responses in favor of anti-tumor therapy. However, GSDME-mediated pyroptosis may also be responsible for pathological inflammation in chronic diseases. Our results show that BLM administration promotes caspase-3 and GSDME cleavage in AEC, which is reduced in *Nlrp6* deficient mice. These results suggest that NLRP6 inflammasome contributes to pulmonary inflammation and fibrosis through GSDME-dependent pyroptosis. Together, our data indicate that NLRP6 is a key player in BLM-induced pulmonary inflammation and fibrosis in mice, potentially through induction of programmed cell death in lung epithelial cells.

Keywords : NLRP6, Lung, Fibrosis, Pyroptosis, Alveolar Epithelial cells.

*Actes du 37^{ème} Colloque BIOTECHNOCENTRE,
Hôtel Dupanloup, 16- 17 octobre 2025*

Page 61 sur 90

Etude des vésicules extracellulaires relarguées par le greffon rénal lors de la période d'ischémie froide : biomarqueurs potentiels de la reprise de fonction.

Marylou PICHONNIERE^{1,2}, Thomas DURET¹, Pierre BOULARD³, Audrey HERAUD¹, Justine GAINCHE¹, Mohammed ELMALLAH¹, Philippe GATAULT^{1,2,4}, Sébastien ROGER^{1,2}

¹U1327 ISCHEMIA, Tours, France

²FHU BIOSUPPORT, Tours, France

³U1100 CEPR, Tours, France

⁴Service de néphrologie, dialyse et transplantation rénale, CHU Bretonneau, Tours, France

La transplantation rénale est le traitement de choix chez des patients atteints d'insuffisance rénale terminale. Pour répondre à la demande croissante de disponibilité de greffons, ces derniers sont prélevés chez des donneurs dits à critères élargis (CE) (âgés, avec une hypertension artérielle, insuffisance rénale aigue) et sont placés sur machine de conservation en hypothermie avec un liquide de perfusion. La période sur machine décrit alors une durée d'ischémie froide. Dans 20 à 30% des cas de transplantation, et ceci majorer par l'utilisation de greffons dits à CE, les patients receveurs présentent une reprise retardée de fonction du greffon (DGF = « delayed graft function »). Cette dernière est caractérisée cliniquement par le recours à la dialyse la première semaine post-opération. Les mécanismes moléculaires de la DGF sont encore méconnus, mais on la décrit comme associée aux lésions d'ischémie-reperfusion (I/R) subies par le greffon au cours de la transplantation. Il n'existe actuellement aucun biomarqueur prédictif de la qualité fonctionnelle du greffon. Les vésicules extracellulaires (EVs) sont des médiateurs essentiels de la communication intercellulaire, dont la taille est comprise entre 30 à 200 nm de diamètre. Le relargage d'EVs est modulé en période d'I/R. Ainsi, l'objectif du projet est d'isoler les EVs issues de liquide de perfusion et d'évaluer leur rôle de biomarqueurs de qualité de la reprise de fonction du greffon rénal. Pour cela, les EVs sont isolées par ultracentrifugation différentielle et caractériser en taille et quantité par NanoTracking Analysis. Les marqueurs des EVs (CD63, CD9, Flotiline-1) sont analysés par Western-Blot. L'enrichissement protéique est évalué par approche omique (LC MS/MS). Actuellement, 61 liquides ont été analysés, dont 16 (32%) pour lesquels les greffons présentent une DGF. La durée d'ischémie froide semble influencer la concentration d'EVs présente dans les liquides, et est accompagné d'un changement morphologique des EVs. Il n'y a pas de différences significatives de taille et de quantité d'EVs entre les liquides DGF et non-DGF, et les échantillons présentent tous les marqueurs CD63 et Flotiline-1. L'analyse protéomique nous a permis de mettre en évidence des différences de contenu pour les EVs issues de greffon présentant une DGF avec 17 protéines enrichies. Des analyses omiques complémentaires permettent d'évaluer l'origine cellulaire des EVs.

Mots clés: Transplantation Rénale – DGF – Biomarqueurs – Vésicules extracellulaires – Liquide de conservation.

Identification and characterization of new transcription factors regulated by a filamentous self-assembly mechanism

A.MATEO^I, F.Coste^I, R. Cepa^I, S. Goffinont^I, L. Mance^I, M. V. Staller^{II,III,IV}, A. G. Wróbel^V, B. Castaing^I, M.J. Suskiewicz^I

^ICentre for Molecular Biophysics, UPR CNRS 4301, Orléans, France,

^{II}Department of Molecular and Cell Biology, University of California, Berkeley, California,

^{III}Center for Computational Biology, University of California, Berkeley, California,

^{IV}Chan Zuckerberg Biohub—San Francisco, San Francisco, California,

^VDepartment of Bio-chemistry, University of Oxford, Oxford, UK.

Transcription factors (TFs) are key proteins that control gene expression in response to various cell signals by binding to specific DNA sequences. Human TFs, present in multiple copies in cells, might have some of their functions emerging from their self-assembly as homomers (dimer, trimer, tetramer, etc.). Recently, a few TFs have been found to form filamentous self-assemblies driven by folded domains such as BTB domains of ZBTB proteins. Filaments are a special type of homomers that can grow long due to their elongated shape and lack of steric constraints. TFs filamentation has been an underexplored field and remains poorly understood.

In this poster, three approaches to study human TF polymerization will be presented: *in silico*, *in vitro*, and *in cellula*. Firstly, we are currently developing a new AlphaFold pipeline to identify Human TFs potentially possessing this self-assembly oligomerization mechanism. Then, candidates will be tested *in vitro* with biophysical (ITC, SEC-MALS, etc.) and structural techniques, including crystallography and cryo-EM. Further, we will utilize confocal microscopy to localize filaments in the nucleus, and investigate the development of dynamic foci, alongside fluorescence assays. This combined approach could help us understand gene regulation, filamentation functions, and might offer new insights into novel inhibitor targets.

Mots-clés: Transcription factors, Filamentation, Gene regulation

Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des mécanismes d'action des phytocannabinoïdes dans la peau.

Océane QUIN, Arielle NZOUSSI LOUBOTA, Fabienne FASANI, Clara DELIMESLE, Maïlys SAUVEGRAIN, Catherine GRILLON

Centre de Biophysique Moléculaire - UPR4301 CNRS, Orléans

Le système endocannabinoïde, principalement étudié dans le cerveau, est composé de récepteurs (principalement CB1, CB2), de ligands endogènes et d'enzymes régulatrices. Il module de nombreux processus cellulaires, tels que la prolifération, la différenciation, l'inflammation ou l'apoptose, afin de contribuer au maintien de l'homéostasie physiologique. Les phytocannabinoïdes, molécules provenant majoritairement de la plante de cannabis, comme le cannabidiol (CBD), interagissent avec ce système et influencent diverses voies biologiques. Bien que leur action soit bien documentée dans le système nerveux central, leur impact au niveau cutané reste peu exploré. Or, des données suggèrent qu'ils pourraient moduler des voies d'intérêt en dermocosmétique, telles que l'inflammation, la prolifération cellulaire ou la réponse au stress. Notre projet vise à développer des outils cellulaires et moléculaires pour étudier ces mécanismes dans des cellules de peau. Étant donné la faible expression des récepteurs endocannabinoïdes dans les kératinocytes, nous proposons de moduler leur expression de manière stable par des lentivirus : surexpression et extinction pour identifier les voies biologiques modulées par les phytocannabinoïdes et inhérentes à chacun des récepteurs. Nous nous intéressons à 5 récepteurs du système, CB1, CB2, GPR55, PPAR γ et TRPV1. L'objectif est de mieux comprendre les effets des phytocannabinoïdes, notamment ceux minoritaires provenant de la plante de *Cannabis sativa* L., sur les cellules cutanées en analysant les réponses biologiques associées à ces modulations, via l'analyse de voies de signalisations spécifiques et plus largement l'analyse des métabolites des kératinocytes par ^1H -RMN.

Mots-clés: système endocannabinoïde, phytocannabinoïdes, peau, kératinocytes, récepteurs, cosmétiques

Crystallization of Human SUMO1 via Fusion Protein Crystallization

Aanchal MISHRA^{1,2}, Stéphane Goffinont¹, Franck Coste¹, El Hadji Cisse¹, Lucija Mance^{1,2},
Bertrand Castaing^{1,2}, Marcin J. Suskiewicz^{1,2}

¹ Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), UPR 4301, CNRS, Orléans, France

² École Doctorale "Santé, Science Biologique & Chimie du Vivant" (ED549), Université d'Orléans, France

SUMO1, a protein modifier involved in diverse cellular processes, interacts noncovalently with SUMO-interacting motifs (SIMs). While crystal structures of SUMO1 in complex with binding partners have been reported, the apo form of SUMO1 has not previously been crystallized. To address this, we engineered a fusion construct by attaching TELSAM (a crystallization chaperone derived from residues 47-123 of ETV6/TEL) to the N-terminus of a truncated SUMO1 (lacking its own N- terminal residues). Using a streamlined purification workflow, we successfully obtained a 2.05 Å crystal structure of apo TELSAM-SUMO1. Isothermal titration calorimetry (ITC) confirmed that the fusion does not disrupt SUMO:SIM binding, supporting the utility of this construct for studying SUMO:SIM interactions. Overall, this work demonstrates a robust strategy to enhance the crystallizability of SUMO1, providing a foundation for future structural studies of SUMO in complex with SIM-containing peptides, which will be presented in the poster.

Keywords: SUMO1, SUMO-interacting motifs (SIMs), TELSAM, fusion protein-assisted protein crystallisation; isothermal titration calorimetry (ITC)

Evolution of CYP71D as a driving force of the diversification of monoterpene indole alkaloid biosynthesis in Gentianales

Sébastien BESSEAU¹, Mickael Durand¹, Duchesse-Lacours Zamar¹, Enzo Lezin¹, Louis-Valentin Méteignier¹, Caroline Birner Williams¹, Christelle Dutilleul¹, Thomas Perrot¹, Arnaud Lanoue¹, Audrey Oudin¹, Nicolas Papon², Georges Massiot³, Chao Sun⁴, Benoit St-Pierre¹, Vincent Courdavault¹,

¹ Biomolécules et Biotechnologies Végétales, UR2106, Université de Tours, 37200 Tours, France, ² Université d'Angers, Université de Brest, IRF, SFR ICAT, F-49000 Angers, France, ³ Institut de Chimie Moléculaire de Reims, UMR CNRS 7312, Université Reims- Champagne-Ardenne, UFR Sciences, Reims, France, ⁴ Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing, China

Monoterpene indole alkaloids (MIAs) represent a vast group of plant natural products of interest, produced within the Gentianales order. Besides their role in plant defense and more broadly in adaptation to the environment, MIAs also possess outstanding pharmacological properties that explain their wide use in our pharmacopeia, such as the anticancer vinblastine and vincristine synthesized by *Catharanthus roseus* or the antimalarial quinine by *Cinchona pubescens*. These biological activities result from the complex structure of MIAs that originate from intricate biosynthetic pathways involving multiple enzyme families and notably cytochrome P450s. Despite their dramatic importance for both plants and humans, the evolutionary history of MIAs remains scarce thus limiting our ability to uncover novel biosynthetic mechanisms. Through genome mining and a wide phylogenetic analysis of Gentianales P450s, we identified a clade of enzymes restricted to the MIA producing plants (Apocynaceae). This clade includes several previously characterized enzymes responsible for the synthesis of diverse MIA scaffolds such as mava-curanes, strychnanes, akuammilanes, sarpaganes, yohimbanes and heteroyohimanes. Extensive functional characterization of 36 members of this newly defined P450 clade, named GAS, revealed four functional subclades with distinct but overlapping substrate specificities, reflecting a spectrum of activities ranging from strict aromatization to cyclization. Finally, ancestral sequence reconstruction (ASR) enabled the resurrection and characterization of four ancestral enzymes, tracing the evolutionary trajectory of the GAS lineage. Starting from a unique substrate acceptance and simple aromatization activity of the initial ancestor, successive gene duplication events combined with neofunctionalization progressively led to broader substrate acceptance and introduced novel catalytic outcomes, driven the radiant evolution of MIAs and shaped their remarkable chemical complexity. These findings highlight GAS as a central evolutionary innovation and a promising target for metabolic engineering of pharmacologically valuable MIAs.

Keywords: Cytochrome P450s, enzyme evolution, ancestral genes, alkaloids, Gentianales

Tracing the Origin and Evolution of Secondary Metabolite Biosynthesis Pathways in Fungi

Baptiste Bidon ^{a,b}, Hajar Yaakoub ^{a,c}, Arnaud Lanoue ^d, Antoine Géry ^e, Virginie S guin ^e, Florent Magot ^d, Claire Hoffmann ^{f,g}, Vincent Courdavault ^d, Jean-Philippe Bouchara ^a, Jean-Pierre Gangneux ^{h,i}, Jens C. Frisvad ^j, Antonis Rokas ^{k,l}, Gustavo H. Goldman ^m, Gilles Nevez ^{f,g}, Solène Le Gal ^{f,g}, Domenico Davolos ⁿ, David Garon ^e, Nicolas PAPON ^a

^a Univ Angers, Univ Brest, IRF, SFR ICAT, F-49000, Angers, France. ^b Centre for Genomics and Precision Medicine, National Taiwan University, Taipei, Taiwan. ^c Nantes Université, INRAE UMR-1280 PhAN, F-44000, Nantes, France. ^d Université de Tours, BBV EA2106, Tours, France. ^e ABTE EA 4651-ToxEMAC, Normandie Université, UNICAEN, UNIROUEN, Caen, France. ^f Univ Brest, Univ Angers, IRF, SFR ICAT, F-49000, Brest, France. ^g Parasitology-Mycology Unit, Brest University Hospital, Brest, France. ^h Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail)-UMR_S 1085, Rennes, France. ⁱ Parasitology-Mycology Unit, Rennes University Hospital, European Excellence Center in Medical Mycology (ECMM EC), Centre National de Référence pour les mycoses et antifongiques-laboratoire associé Aspergilloses chroniques (CNRMA- LA AspC), Rennes, France. ^j Department of Biotechnology and Biomedicine, Technical University of Denmark, Kongens Lyngby, Denmark. ^k Department of Biological Sciences, Vanderbilt University, Nashville, TN, USA. ^l Vanderbilt Evolutionary Studies Initiative, Vanderbilt University, Nashville, TN, USA. ^m Faculdade de Ciências Farmac uticas de Ribeirão Preto, Universidade de S o Paulo, Ribeirão Preto, and National Institute of Science and Technology in Human Pathogenic Fungi, Brazil. ⁿ Department of Technological Innovations and Safety of Plants, Products and Anthropic Settlements (DIT), INAIL, Research Area, Rome, Italy.

* Correspondence: nicolas.papon@univ-angers.fr

Like bacteria and plants, fungi produce a remarkable diversity of small molecules with potent activities for human health known as natural products or secondary metabolites. One such example is mycophenolic acid (MPA), a powerful immunosuppressant drug that is administered daily to millions of transplant recipients worldwide. Production of MPA is restricted to a very limited number of filamentous fungi, and little is known about its biosynthetic modalities. It is therefore a particular challenge to improve our knowledge of the biosynthesis of this valuable natural compound, as this would contribute to a better understanding of the specialized metabolism of fungi and could also lead to the identification of new fungal producers for the supply of immunosuppressants. Here, we were interested in deciphering the origin and evolution of the fungal MPA biosynthetic pathway. Large-scale analyses of fungal genomic resources led us to identify several new species that harbour a gene cluster for MPA biosynthesis. Phylogenomic analysis suggests that the MPA biosynthetic gene cluster originated early in a common ancestor of the fungal family *Aspergillaceae* but was repeatedly lost and it is now present in a narrow but diverse set of filamentous fungi. Our study provides new insight into the evolution of the biosynthesis of the important secondary metabolite MPA in fungi.

Optimisation de la surexpression des terpènes synthases chez *Nicotiana benthamiana*

CHASSIN Camille¹, MARTINELLI Laure¹, DURAND Mickaël¹, BIRER-WILLIAMS Caroline¹,
OUDIN Audrey¹, BESSEAU Sébastien¹, COURDAVAULT Vincent¹

¹ Biomolécules et Biotechnologies Végétales (UR2106), UFR de Pharmacie, Université de Tours, France

Les diterpènes sont des composés bioactifs à haute valeur ajoutée principalement produits par les plantes, mais également par les algues marines telles que *Laurencia spp.* et *Dictyota spp.*. Dans le cadre du projet européen Horizon COMBO, notre objectif est d'identifier les terpènes synthases (TPS) impliquées dans la biosynthèse de ces diterpènes. Une **analyse métabolomique** a permis d'identifier les diterpènes présents chez ces algues, tandis que le **séquençage de leur génome** est en cours afin de repérer des gènes candidats codant de putatives TPS. L'activité de ces gènes candidats sera évaluée par des tests enzymatiques effectués après expression transitoire de ces gènes chez *Nicotiana benthamiana*. Pour optimiser ces tests et augmenter la détection des produits des TPS, une optimisation de la synthèse endogène du géranylgeranyl diphosphate (GGPP), précurseur des diterpènes, a été réalisée. Pour ce faire, trois gènes ont été sélectionnés afin d'être exprimés transitoirement chez *N. benthamiana*. Ces gènes incluent ceux codant les enzymes deoxyxylulose 5-phosphate synthase (DXS) et hydroxymethylbutenyl diphosphate reductase (HDR) de la voie du méthyl-érythritol phosphate (MEP) participant à la synthèse de l'isopentényl diphosphate (IPP) et du diméthylallyl diphosphate (DMAPP) et le gène codant la GGPP synthase utilisant l'IPP et le DMAPP pour produire le GGPP. Pour mesurer l'impact de leur surexpression sur la capacité de détection des diterpènes, une TPS connue, (TPSGA2), assurant la synthèse d'ent-kaurène chez *Arabidopsis thaliana*, a été coexprimée chez *N. benthamiana* en présence de ces trois gènes. L'analyse des diterpènes ainsi produits dans les feuilles transformées a permis de montrer une augmentation substantielle des taux de **GGPP, ent-kaurene et de ses produits dérivés incluant l'ent-kaurenoate** et des **gibbéréllines**. Ces résultats démontrent que l'**optimisation métabolique de la voie du GGPP** améliore efficacement la production de diterpènes, ce qui facilitera l'analyse des résultats lors de l'identification des putatives TPS.

The impact of immunosuppressants on the biology of *Aspergillus fumigatus*, a major fungal pathogen

Anne Donnars ^{a,b}, Perrine Hauet ^a, Rose-Anne Lavergne ^c, Florent Morio ^c, Géraldine Leman ^a, Charlotte Godon ^a, Anaïs Hérivaux ^a, Hélène Guegan ^{d,e}, Claire Hoffmann ^{f,g}, Benoit Briard ^h, Guillaume Desoubieux ⁱ, Jacques Guillot ^{j,a}, Jean-Pierre Gangneux ^{d,e}, Cécile Vigneau ^{d,e}, Jean-Paul Latgé ^a, Sébastien Bertout ^k, Jean-Philippe Bouchara ^a, Solène Le Gal ^{f,g}, Gilles Nevez ^{f,g}, Caroline Deshayes ^a, Nicolas Papon ^a

^a Univ Angers, Univ Brest, IRF, SFR ICAT, F-49000, Angers, France. ^b Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Département de Biologie des Agents Infectieux, CHU Angers, Angers, France. ^c Nantes Université, CHU Nantes, Cibles et Médicaments des Infections et de l'Immunité, IICiMed, UR 1155, F-44000 Nantes, France. ^d Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail)-UMR_S 1085, Rennes, France. ^e Parasitology-Mycology Unit, Rennes University Hospital, European Excellence Center in Medical Mycology (ECMM EC), Centre National de Référence pour les mycoses et antifongiques-laboratoire associé Aspergilloses chroniques (CNRMA-LA AspC), Rennes, France. ^f Univ Brest, Univ Angers, IRF, SFR ICAT, F-49000, Brest, France. ^g Parasitology-Mycology Unit, Brest University Hospital, Brest, France. ^h Centre d'Étude des Pathologies Respiratoires, Inserm UMR1100, Université de Tours, Tours, France. ⁱ Parasitologie-Mycologie médicale-Médecine tropicale, Pôle Biologie médicale-Pathologie, hôpital Bretonneau, Tours, France. ^j École nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation de Nantes-Atlantique, Oniris, Nantes, France. ^k Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale, TransVIHMI, University of Montpellier, INSERM, IRD, 15 Avenue Charles Flahaut, 34093 Montpellier, France.

Aspergillus fumigatus, a ubiquitous and opportunistic mould, is responsible for invasive fungal infections which are characterised by high morbidity and mortality rates in transplant patients. To minimise the risk of complications for transplant recipients, such as rejection (mainly graft-versus-host disease) and infectious diseases, these patients are given combinations of antimicrobial and immunosuppressive agents. Recent advances have shed light on the influence of antimicrobial prophylaxis on the development of invasive fungal infections in transplant recipients. However, the impact of immunosuppressants (IS) on the biology and genetic evolution of major fungal pathogens in this clinical context remains unknown. For this reason, we recently started a multidisciplinary scientific programme with the following aims: (i) to assess the *in vitro* antifungal activity of IS alone or in combination on *A. fumigatus*; (ii) to characterise phenotypic changes in *A. fumigatus* associated with long-term *in vitro* exposure to IS, and to decipher their underlying genetic determinants; and (iii) to confirm the clinical relevance of the *in vitro* observations by conducting phenotypic and genotypic characterisations of *A. fumigatus* clinical isolates recovered from transplant patients. Here, we present the results of our evaluation of the *in vitro* antifungal activity of eight IS on three *A. fumigatus* strains. Future experiments will involve developing an experimental evolution procedure to assess the impact of long-term exposure to IS on the genetic evolution of *A. fumigatus*.

✪ - Through the Eyes of MIAs: Single-Cell and Omics Insights - ✪

Mickaël DURAND, Duchesse Zamar, Enzo Lezin, Sébastien Besseau and Vincent Courdavault

Biomolécules et Biotechnologies Végétales, UR2106, Université de Tours, 37200 Tours, France

Monoterpene indole alkaloids (MIAs) constitute one of the most structurally diverse and pharmacologically valuable classes of plant natural products, with applications ranging from anticancer to antihypertensive therapies. Despite their importance, the biosynthetic routes and cellular contexts underlying MIA formation remain only partially resolved. Recent advances in OMICs — notably chromosome-scale genome assemblies, comprehensive metabolomic datasets, and large transcriptomic resources — have accelerated the discovery of genes and pathways linked to specialized metabolism. In parallel, single-cell technologies, including single-cell RNA sequencing and spatial transcriptomics, are reshaping our understanding of MIA biosynthesis by revealing cellular heterogeneity and tissue-specific expression of biosynthetic genes.

In our work, machine learning is applied to metabolomic and transcriptomic datasets to enhance candidate gene prediction and prioritization, while genome mining provides high-confidence anchors for pathway reconstruction. Single-cell approaches are used independently to generate cellular-resolution expression maps that localize biosynthetic steps and guide functional validation. This poster presents several recent publications from our lab illustrating these complementary strategies: chromosome-scale genome mining (1,2-dihydrovomilenine reductase in *Rauvolfia tetraphylla*), machine learning-guided metabolomic and transcriptomic integration (Yohimbine synthase in *Rauvolfia tetraphylla*), and single-cell transcriptomics in *Alstonia scholaris* (picrinine synthase, steps toward scholaricine). Together, these case studies demonstrate how genomic resources, computational prediction, and single-cell resolution accelerate the elucidation of complex MIA pathways.

Differential effects of voriconazole and posaconazole on macrophage antifungal activity against *Scedosporium apiospermum*

Dorra ELHAJ MAHMOUD^a, Jean-Charles JOUHANNEAU^a, Bienvenue RAZAFIMANDIMBY^a, Pascale PIGNON^{b,c}, Perrine HAUET^a, Nathalie CLEMENT^a, Charlotte GODON^a, Yves DELNESTE^{b,c}, Jean-Phillipe BOUCHARA^a, Nicolas PAPON^a

^a Univ Angers, Univ Brest, IRF, SFR ICAT, 49000, Angers, France.

^b Univ Angers, Nantes Université, Inserm, CNRS, CRCI²NA, SFR ICAT, F-49000 Angers, France.

^c Immunology and Allergology laboratory, University Hospital of Angers, Angers, France.

* Correspondence: dorra.hadjmahmoud@univ-angers.fr

Fungal infections caused by *Scedosporium apiospermum* are on the rise in both immunocompromised and immunocompetent patients. The innate immune response is believed to be critical for host defense against scedosporiosis. However, its role has only recently been elucidated and the immunomodulatory effects of antifungal agents against this mold are currently unknown. Using a THP1 derived macrophage model, we demonstrate that posaconazole and voriconazole differentially modulate macrophage transcriptional profiles in both absence or presence of the fungal pathogen, without significantly affecting ROS production and phagocytic activity. Pre-exposure of macrophages to posaconazole and voriconazole enhances intracellular fungal killing, suggesting that the direct antifungal activity and potential intracellular accumulation should be considered for optimizing antifungal strategies against *S. apiospermum* and other opportunistic molds

Keywords: *Scedosporium apiospermum*, Immune response, Macrophages, Antifungal drugs

Apport d'une enquête environnementale suite à un cas de scédosporiose chez un chat

FAJLOUN Faraj¹, Bitar Rita², Blumstein Philippe², Soetart Nicolas³, Cordier Pierre², Sanchez Maria Dolores^{1,2}, Razafimandimby Bienvenue¹, Bensignor Emmanuel^{2,4}, Bouchara Jean-Philippe¹, Guillot Jacques^{1,2}

1. Univ. d'Angers, Univ. de Brest, Oniris, IRF, SFR ICAT, 49000 Angers
2. Oniris VetAgroBio Nantes, Dermatologie-Parasitologie-Mycologie, 44300 Nantes
3. Oniris VetAgroBio Nantes, LabOniris, 44300 Nantes, France
4. Dermatoveto, 75003 Paris, France

Nous rapportons les résultats d'une enquête environnementale visant à explorer la contamination d'un animal de compagnie par un *Scedosporium*. Une chatte européenne de 16 ans a été présentée en consultation de dermatologie à l'école vétérinaire de Nantes pour un nodule ulcéré douloureux (3–4 cm), localisé à la base de la queue. L'antibiothérapie empirique étant inefficace, une cytoponction a révélé une inflammation pyogranulomateuse sévère associée à des hyphes hyalines. Des biopsies cutanées ont permis une analyse histopathologique et une mise en culture, aboutissant à l'isolement d'un champignon du genre *Scedosporium*. Le séquençage des régions ITS1 et ITS2 de l'ADN ribosomique a révélé une forte proximité avec *S. sphaerospermum* (99,48 % d'identité avec la souche WL02796). Les tests de sensibilité (E-test) ont montré une sensibilité à la caspofungine, l'itraconazole, le posaconazole et le voriconazole, et une moindre sensibilité à l'amphotéricine B et à la terbinafine. Un traitement combiné oral (itraconazole) et topique (ciclopirox olamine) a amélioré la lésion, mais l'animal a développé des signes respiratoires menant à un arrêt cardio-respiratoire. Une enquête ciblée autour de son lieu de vie a permis le prélèvement de 10 échantillons de sol (7 de plantes en pot, 3 du jardin), ensemencés sur milieu Scedo-Select III. Huit échantillons, dont tous les pots et une plate-bande, étaient positifs, avec une densité fongique de 100 à 250 UFC/g. Cinq colonies morphologiquement distinctes ont été sélectionnées par échantillon. Le séquençage de la région ITS a permis d'identifier plusieurs espèces (*S. apiospermum*, *S. aurantiacum*, *S. dehoogii*), mais aucun isolat environnemental ne correspondait à *S. sphaerospermum*. Ces résultats révèlent une diversité importante de *Scedosporium* dans l'environnement domestique et soulignent les limites d'une identification fondée uniquement sur l'ITS. Des analyses complémentaires (β -tubuline, calmoduline...) sont nécessaires. Ce travail illustre la complexité des interactions entre environnement et agents fongiques opportunistes, et l'importance d'une approche intégrée.

Mots-Clés: *Scedosporium* ; Infection fongique opportuniste ; Dermatologie vétérinaire ; Environnement ; Séquençage ITS ; Antifongiques

Marine Drug Biodiscovery and Production: Emerging Synthetic Biology Perspectives

Charlotte GODON^a, Laure Martinelli^b, Camille Chassin^b, Sébastien Besseau^b, Olivier P. Thomas^c, Vincent Courdavault^b, Nicolas Papon^a

^a Univ Angers, Univ Brest, IRF, SFR ICAT, F-49000, Angers, France. ^b Université de Tours, BBV EA2106, Tours, France.

^c School of Biological and Chemical Sciences, Ryan Institute, University Road, Galway, Ireland.

* Correspondence: nicolas.papon@univ-angers.fr

The marine environment is a huge reservoir of biodiversity and represents an excellent source of chemical compounds, some of which have large economic values. In the urgent quest for new pharmaceuticals, marine-based drug discovery has progressed significantly over the past several decades and we now benefit from a series of approved marine natural products (MNPs) to treat cancer and pain while an additional collection of promising leads is in clinical trials. However, the discovery and supply of MNPs have always been challenging given their low bioavailability and structural complexity. Their manufacture for pre-clinical and clinical development but also commercialization mainly relies upon marine source extraction and chemical synthesis, which are associated with high costs, unsustainability and severe environmental problems. By introducing the new Horizon Europe COMBO project, we discuss here how metabolic engineering now raises reasonable expectations for providing sustainable approaches for MNP-based drug supply in the near future.

Association between mycophenolic acid treatment and infection with specific strains of *Pneumocystis jirovecii* in solid organ transplant recipients in France and Switzerland: a multicentre, retrospective, cross-sectional study

Claire V Hoffmann ^{a,b}, Yannick Le Meur ^{c,d}, Marie-Christine Moal ^c, Anne Grall-Jézéquel ^c, Nathan Le Nan ^b, Nicolas Papon ^e, Gilles Nevez ^{a,b}, Solène Le Gal ^{a,b} on behalf of the *Pneumocystis IMPDH* Study Group

^a CHU de Brest, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Brest, France; ^b Univ Brest, Univ Angers, Infections Respiratoires Fongiques, Brest, France; ^c CHU de Brest, Service de néphrologie et transplantations rénales, Brest, France; ^d Université de Brest, UMR1227, Lymphocytes B et Autoimmunité, Inserm, Labex IGO, Brest, France; ^e Univ Angers, Univ Brest, Infections Respiratoires Fongiques, SFR ICAT, Angers, France

* Correspondence: nicolas.papon@univ-angers.fr

Pneumocystis pneumonia (PCP) case clusters involving solid organ transplant (SOT) recipients have been reported worldwide. Mycophenolic acid (MPA), an immunosuppressant used to prevent rejection in SOT recipients that targets the inosine 5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH) protein, has been hypothesised to exert selective pressure on *Pneumocystis jirovecii*. The aim of this study was to test the hypothesis that SOT recipients harbour *P. jirovecii* with mutations in the *impdh* gene and are infected with specific *P. jirovecii* strains. 58 SOT recipients (44 treated with MPA) and 59 non-SOT recipients (control group; not treated with MPA) diagnosed with PCP between 2001, and 2021, were enrolled. The G1020A (Ala261Thr) mutation was detected in *P. jirovecii* specimens from 40 (68.9%) SOT recipients (37 treated with MPA) and in none of the *P. jirovecii* specimens from the patients in the control group. The multivariable analysis showed that the allele characterised by the G1020A mutation was associated with MPA exposure at the time of PCP diagnosis and involvement in a PCP case cluster, whereas it was not associated with age, PCP prophylaxis, and clinical deterioration. A second missense mutation, G1020T (Ala261Ser) was identified in *P. jirovecii* specimens from three SOT recipients (two treated with MPA). Two specific multilocus genotypes (MLG-31 and MLG-34) of *P. jirovecii* associated with Ala261Thr and Ala261Ser substitutions in IMPDH, respectively, were detected only in SOT recipients (38 patients with MLG-31 and three patients with MLG-34). SOT recipients in this study were primarily infected with specific *P. jirovecii* strains with mutations in the *impdh* gene, which might confer a selective advantage as both the G1020A (Ala261Thr) and G1020T (Ala261Ser) are associated with MPA resistance in other fungi. MPA selective pressure might explain the maintenance and circulation of these *P. jirovecii* strains within this patient population, and consequently their potential involvement in PCP case clusters.

Identification of an orphan family involved in nymphose of *Nasonia vitripennis*

Charlotte Lécureuil^{1*}, Christine Almunia², Vanessa Guérin¹, Jean Armengaud², Thierry Moreau³,
Sophie FOUCHÉCOURT⁴

1 Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte (IRBI), UMR 7261, CNRS-Université de Tours, 37200, Tours, France.

2 Département Médicaments et Technologies pour la Santé (DMTS), CEA, INRAE, SPI-Li2D, Université Paris-Saclay, Bagnols-sur-Cèze, France

3 INRAE, Université de Tours, BOA, 37380, Nouzilly, France.

4 INRAE, CNRS, Université de Tours, PRC, 37380, Nouzilly, France.

In this study, we first provide the first proteome-wide characterization of tissue-specific and developmental protein dynamics during *Nasonia vitripennis* development of nymphae (nymphose). Across heads, legs, and testes at four successive pupal stages, we identified more than 2500 proteins present, including a large ubiquitous core but also clear signatures of tissue- and stage-specific expression. Remarkably, a substantial fraction of proteins, remain uncharacterized, pointing to an unexplored repertoire of potential regulators of cell differentiation. Using AFDB/FSS tools, structural predictions and 3D similarity search revealed that four orphan proteins belong to a novel family of six-bladed β -propeller-like proteins likely related to exo-alpha-sialidases. Moreover, this family is apparently restricted to Hymenoptera, suggesting it may represent lineage-specific innovations potentially linked to organ differentiation or tissue remodeling, in addition to possible roles in reproductive biology. Together, our findings establish a comprehensive proteomic framework for *Nasonia* nymphal differentiation, bridging conserved spermatogenic mechanisms with clade-specific molecular innovations.

Extracellular iron uptake: new target for combating infections caused by the fungus *Scedosporium apiospermum*

Alixia Péant^a, Julie Guiblin^a, Charlotte Godon^a, Nicolas Papon^a, Jean-Philippe Bouchara^a, Anaïs HÉRIVAUX^a

^a Univ Angers, Univ Brest, IRF, SFR ICAT, F-49000 Angers, France

* Correspondence: anaïs.herivaux@univ-angers.fr

Scedosporium apiospermum is the second most prevalent filamentous fungus to chronically colonize the airways in individuals with cystic fibrosis (CF). This constitutes a significant risk factor for severe and often fatal disseminated infection in CF patients undergoing lung transplantation, due to their low susceptibility to current antifungal drugs. Consequently, there is an urgent need to identify promising new targets for therapeutic innovation. It has been demonstrated that iron assimilation plays a significant role in the survival and virulence of *S. apiospermum*. This fungus has developed two high-affinity pathways to meet its iron requirements: siderophore-mediated iron assimilation (SIA) and reductive iron assimilation (RIA). The objective of this project was to characterize the pathway that primarily contributes to extracellular iron assimilation in *S. apiospermum*. Here, we focused on the RIA pathway by deleting the *FTRA* genes, which encode two FtrA permeases, using the CRISPR-Cas9 technology. All the generated disrupted strains (*FTRA1D*, *FTRA2D*, and *FTRA1D/FTRA2D*) shared a comparable fungal growth, in comparison to the parent strain, on agar medium. In addition, all the tested strains were able to grow under iron starvation conditions, indicating that RIA is not the sole pathway implicated in iron acquisition in *S. apiospermum*. Further studies will be conducted to identify transporters involved in the SIA pathway.

Alkaloids Now: Engineering Yeast with Metabolic Strategies

Thomas Perrot¹, Gregory Guirimand¹, Natalja Kulagina¹, Ana-Luisa Lopez Vazquez¹, Sébastien Besseau¹
and Vincent Courdavault¹

¹ *Biomolécules et Biotechnologies Végétales, BBV, EA2106, Université de Tours, Tours, France*

Plants produce a diversity of high valuable compounds which have many interests for the industrial sector particularly for pharmaceutical and cosmeceutical applications. Among these valuable plant natural products, monoterpene indole alkaloids (MIAs) represent a broad family composed of more than 3000 molecules identified so far. Biosynthetic pathways of MIAs have been widely studied and a key precursor named strictosidine has been identified as the crucial starting point for producing a diversity of alkaloid derivatives. To explore the complex metabolic routes leading to the desired alkaloid products, synthetic biology approaches have been considered and microbial engineering strategies have been applied. Amongst these strategies, integration of transporters facilitating precursor uptake and colocalization of biosynthetic enzymes in similar subcellular compartments appeared essential for avoiding metabolic bottleneck and maximizing the metabolic flux. In this work, we optimized the strictosidine synthesis and its deglycosylation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* to produce alkaloids on demand. For this optimization, specific nitrate/peptide family transporters known to be involved in the import of monoterpeneoid MIA precursors including secologanin were integrated into the yeast genome to promote strictosidine production. Moreover, retargeting biosynthetic enzymes was investigated by testing three subcellular localizations of the strictosidine synthase and strictosidine glucosidase and measuring strictosidine titers by liquid chromatographic-mass spectrometry. Afterwards, the best engineered yeast strains were selected for producing the neuroprotective agent tetrahydroalstonine alkaloid as a proof of concept. Taken together, this work contributed to design a yeast chassis which can be used for producing tailor-made alkaloids. Ultimately, the next step will be the scale-up of the optimized chassis strain in bioreactor for producing higher levels of desired plant alkaloids metabolites.

Optimization of the genome editing CRISPR-Cas9 technology in *Scedosporium apiospermum*

Kévin Ravenel ^a, Wilfried Poirier ^a, Bienvenue Razafimandimby ^a, Jean-Philippe Bouchara ^a, Amandine Gastebois ^a, and Sandrine Giraud ^{a*}

¹ IRF (Infections Respiratoires Fongiques), Univ Angers, Univ Brest, SFR ICAT 4208, Angers, France

Fungi of the *Scedosporium* genus are opportunistic pathogens responsible for a large variety of infections in humans. To date, there is only few information on the pathogenic mechanisms of these fungi, mainly because of the restricted number of genetic tools available. The CRISPR-Cas9 technology has revolutionized biological research and provides promising results for functional genomic studies in filamentous fungi. Here, we optimized this technology for *Scedosporium apiospermum* using *in vitro* assembled Cas9 ribonucleoprotein (RNP) complexes. In this fungi, functional genomic studies are particularly difficult in a wild-type strain, because of the high frequency of non-homologous recombination (NHEJ). Prior disruption of the *KU70* gene, encoding a component of the non-homologous end joining system is required, which necessitates the use of a first selection marker, phleomycin. The cleavage of the target gene at each end using two RNA-guided Cas9 complex, followed by recombination with a repair template containing the hygromycin resistance gene (*HygR*), allowed deletion of the target gene in the $\Delta KU70$ strain. Four genes encoding dioxygenases, catalyzing ring-opening step in aromatic hydrocarbons, were successfully disrupted, and the optimum efficiency was observed using 5 μ g of the *HygR* repair cassette. Alternatively, the use of these dual Cas9 RNP complexes alone in the wild-type strain enabled a sufficiently efficient deletion without the need for a selection marker. These last experimental conditions open the way to multiple gene deletions and complementation experiments, which cannot be realized using our first transformation procedure since only two selection markers are available for *Scedosporium apiospermum*.

Listes des présentations par type et ordre alphabétique

► Conférences

Aubry F.	page 25
Belzung C..	page 9
Carcaud J.	page 23
Chaubet G.	page 14
Colombeau L.	page 34
Doz-Deblauwe E.	page 18
Eloit M.	page 19
Fouchécourt S.	page 27
Gressens P.	page 10
Heuzé Vourc'h N..	page 13
Libbrecht R.	page 24
Paget C.	page 29
Pennuto C.	page 28
Rivas C..	page 22

► Communications orales de L'ED

Ayena K.	page 16
Bedu C.	page 26
Challeat L.	page 11
Chekroune T.	page 32
Cutuk P.	page 30
Danzelle C.	page 20
David A.	page 31
Ea K.	page 12
Gautron N.	page 15
Nivard M.	page 21
Roussel A.	page 33
Schleederer J.	page 17

► Présentations orales des sujets de thèse financés par LVH

Dubois-Contoux C.	page 36
Marchand O.	page 37
Peyrot C.	page 38
Robineau H.	page 39
Villain V.	page 40

► Communications de l'Ecole Doctorale par poster

Andelini M.	page 59
Bamisaye V.	page 58
Brisard M.	page 46
Gaiamova E.	page 48
Gerber V.	page 51
Gil Quevedo A.	page 49
Lapointe V.	page 60
Lépine N.	page 52
Magat Y-M	page 61
Mansour R.	page 53
Mateo A.	page 63
Mishra A.	page 65
Montero Diaz K.	page 54
Moutardier L.	page 55
Olivera E Silva C.J	page 56
Pichonnière M.	page 62

Quin O.	page 64
Rigoux B.	page 50
Truffier A.	page 47
Vandenbroucke-Menu E.	page 57

► Communication par poster en dehors de l'Ecole Doctorale

Besseau S.	page 66
Chassin C.	page 68
Durand M.	page 70
Elhaj Mahmoud D.	page 71
Fajloun F.	page 72
Fouchécourt S.	page 75
Gastbois K.	page 78
Godon C.	page 73
Hauet P., Deshayes C.	page 69
Hérivaux A.	page 76
Papon N.	page 67
Papon N.	page 74
Perrot T.	page 77

Les Biosciences en région Centre-Val de Loire
Programme du 37^e Colloque de Biotechnocentre
JEUDI 16 octobre 2025 – Sous l'égide du projet Loire Val-Health

8h30 **Accueil des participants**
9h00 - 9h15 **Introduction du colloque**

Session Neurosciences - - - - -

9h15 - 9h45 **Catherine Belzung**, UMR iBrain Cerveau et Imagerie, INSERM, Université de Tours
 Neurogénèse hippocampique et vulnérabilité au stress.

9h45 - 10h25 **Pierre Gressens**, INSERM - Université Paris Cité, Hôpital Robert Debré, Paris
 Rôle de la neuroinflammation dans la physiopathologie de l'autisme.

10h25 - 10h55 *Présentations orales de l'Ecole Doctorale SSBCV 549*

Laurine CHALLEAT (15 min), UMR iBrain Cerveau et Imagerie, INSERM, Université de Tours, France
 Characterization of the role of PURA in the neurodevelopmental phenotype associated with 5q31 duplications.

Karen EA (15 min), UMR iBrain Cerveau et Imagerie, INSERM, Université de Tours, France
 Ultrasound meets Microbubbles: Enhancing blood-brain barrier permeability in an *in-vitro* model and in mice.

10h55- 11h25 **Pause-Café + Posters (30 min)**

Session nouvelles thèses du programme LVH

11h25 – 12h15 **Célestin DUBOIS-CONTOUX**, **Océane MARCHAND**, **Héloïse ROBINEAU**, **Charline PEYROT**, **Vincent VILLAIN**
 Présentation des sujets (5 min + 5 min de questions)

12h15 - 14h00 **Buffet de midi + Poster**

Session Biomédicaments - - - - -

14h00 - 14h30 **Nathalie Heuzé**, Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, INSERM U1100, Tours
 Inhalation de Protéines thérapeutiques.

14h30 - 15h10 **Guilhem Chaubet**, Bio-Functional Chemistry, LabEx Medalis, CNRS, Université de Strasbourg
 Notions de chimio- et de régio-sélectivité dans la conjugaison de protéines.

15h10 – 15h55 *Présentations orales de l'Ecole Doctorale SSBCV 549*

Nicolas GAUTRON (15 min), Biomolécules et Biotechnologies Végétales, Université de Tours, France
 Bioproduction and sustainable supply of the anticancer compound etoposide by yeast cell-factories.

Kossi AYENA (15 min), Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, Orléans, France
 Anti-inflammatory properties of different phytocannabinoid extracts for pharmacological applications

Julie SCHLEDERER (15 min), ART ARNm, INSERM, Orléans et Harmonix, Orléans, France
 Utilisation de microbulles cationiques couplées aux ultrasons focalisés pour la délivrance de thérapie génique dans le glioblastome

Session Infectiologie - - - - -

15h55 - 16h25 **Emilie Doz-Deblauwe**, UMR Infectiologie Santé Publique, INRAE, Nouzilly
 Sous-types de neutrophiles : double rôle dans la tuberculose.

16h25- 16h55 **Pause-Café + Posters (30 min)**

16h55 - 17h35 **Marc Eloït**, École Vétérinaire d'Alfort, Ancien directeur du Laboratoire de découverte de pathogènes, Institut Pasteur, Paris
 Découverte de virus : de la métagénomique clinique à l'exploration d'interfaces animal/homme.

17h35 - 18h05 *Présentations orales de l'Ecole Doctorale SSBCV 549*

Célya DANZELLE (15 min), UMR Infectiologie Santé Publique, INRAE, Université de Tours, Nouzilly, France
 Vacciner avec la levure : tout sauf du gâteau !

Mona NIVARD (15 min), Morphogenèse et Antigénicité du VIH, des Virus des Hépatites et Émergents, INSERM, Université de Tours
 L'hypoxie physiologique est un inducteur majeur de la production et de la sécrétion des protéines d'enveloppe du virus de l'hépatite B

18h05 - 18h20 **Christelle Rivas**, Pôle Étudiant Pour l'Innovation, le Transfert et l'Entrepreneuriat (Pépité), Centre val de Loire
 L'esprit d'entreprendre au service de la recherche

18h20 - 21h00 **Clôture de la journée et Apéritif dinatoire + Posters**

Les Biosciences en région Centre-Val de Loire

Programme du 37^e Colloque de Biotechnocentre

VENDREDI 17 octobre 2025 – Journée Biotechnocentre

Session Entomologie - - - - -

9h00 - 9h40 [Julie Carcaud](#), Laboratoire Génétique Diversité Ecophysiologie des Céréales, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette

Etude du traitement de l'information phéromonale chez l'abeille.

9h40 - 10h10 [Romain Libbrecht](#), Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, CNRS, Université de Tours
Contrôle social de la spécialisation comportementale des reines fourmis.

10h10- 10h30 **Pause-Café + Posters (20 min)**

10h30 - 11h10 [Fabien Aubry](#), Unité Modèles Insectes d'Immunité Innée, IBMC, CNRS, Université de Strasbourg
La recherche des bases moléculaires de la sensibilité d'*Aedes aegypti* à l'infection par les arbovirus.

Session Agro-biosciences, Biologie Végétale - - - - -

11h10 - 11h50 [Pierre Barret](#), UMR Génétique Diversité Ecophysiologie des Céréales INRAE, Université de Clermont-Ferrand
Edition des génomes chez le blé

11h50 - 12h05 *Présentations orales de l'Ecole Doctorale SSBCV 549*

[Camille BEDU](#) (15 min), ICOA, CNRS, Université d'Orléans, Orléans

Synthèse de glucosinolates comme outils enzymatiquement induits de bioconjugaison et de marquage sélectif

12h05 - 13h30 **Buffet de midi + Posters**

13h30 - 14h00 [Sophie Fouchécourt](#), UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRAE, CNRS, Université de Tours, Nouzilly
Compensation environnementale d'activités de recherche en faveur du développement de l'Agroforesterie, de la biodiversité et des interactions sociétales.

14h00 - 14h30 **Assemblée Générale de Biotechnocentre**

Session SHS (partie intégrée au projet LVH) - - - - -

14h30 - 15h00 [Concetta Pennuto](#), UFR Centre d'études supérieures de la Renaissance, Université de Tours
Honnêteté intellectuelle et médecine depuis la renaissance.

Session Immunologie/cancer - - - - -

15h00 - 15h30 [Christophe Paget](#), Centre d'Etudes des Pathologies Respiratoires, Université de Tours
The Janus-like functions of MAIT cells in lung infections.

15h30- 15h50 **Pause-Café + enlèvement des Posters (20 min)**

15h50 - 16h50 *Présentations orales de l'Ecole Doctorale SSBCV 549*

[Petra CUTUK](#) (15 min), N2Cox, Université de Tours et Centre de Biophysique Moléculaire, Orléans, France

Advancing Near-Infrared Optical Imaging Agents for Investigating SKCa Channel Regulation via the cAMP/PKA Pathway in Cancer Cells

[Alexis DAVID](#) (15 min), Centre d'Etudes des Pathologies Respiratoires, INSERM, Université de Tours

Exopolysaccharides de bactéries marines : inhibiteurs sélectifs de l'activité élastolytique de la cathepsine S humaine

[Tarek CHEKROUNE](#) (15 min), Immunologie et Neurogénétique Expérimentales et Moléculaires, CNRS, Université d'Orléans

L'autophagie dans les macrophages comme acteur du métabolisme du fer et de la polarisation lors de la stimulation par les LPS

[Audrey ROUSSEL](#) (15 min), Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, Orléans, France

Towards a new anti-cancer therapy targeting microtubules

Conférence finale - - - - -

16h50 - 17h30 [Ludovic Colombeau](#), Institut Curie, Paris
Contrôle chimique de l'adaptation cellulaire.

17h30 - 18h00 **Remise des prix de Com. Orale et Poster aux Doctorants ED des 2 jours & Clôture du colloque**