



Colloque IBSAM

Jeudi 6 juin 2024

8h15-17h30

Amphi IV

Faculté de Médecine



Colloque IBSAM Jeudi 6 juin 2023

Matin

- 8h15-8h45 Accueil – mise en place des posters
- 8h45-9h00 Mots par le Pr Beatrice Cochener, Doyenne de la faculté de Médecine et sciences de la santé, le Pr. Raphaël Tripiier, VP recherche, et les représentants de l'IBSAM
- 9h15-10h15 **Dr Marc Tramier (Rennes 1) invité par OPTIMAG**
Modérateur Pionnier de la technique de Fluorescence lifetime imaging microscopy (Flim) en France - Responsable de l'équipe Microscopie de fluorescence quantitative à l'Institut de génétique et développement de Rennes1
Mathieu Dubreuil « Smart microscopy and FLIM of FRET biosensors for High Content Screening of kinase inhibitors »
- 10h15-10h30 **Session Flash 1** : Présentations Flash 2 min + poster.
Modérateur **Pierrick Boulic**, GGB, *Projet Biplan : Impact des bactéries des microbiotes pulmonaire et intestinal sur la pharmacocinétique des modulateurs du CFTR*
Christelle Le Gall **Mathilde Brière**, GGB, *Etude des régions régulatrices impliquées dans les pathologies liées au gène CFTR*
Atlantis Daunay, CEMCA, *Développement analytique par spectrométrie de masse pour des peptides cycliques bioactifs*
Maëla Hus, LBAI, *Impact des modifications post-translationnelles de la protéine STIM1 sur sa présence, sa topologie et son activité à la membrane plasmique*
Abdel Yaya oye akibou, LBAI, *Identification of transcriptome changes within multiple immune cells transcriptomes in Sjögren disease through traditional, multi-omics and network*
- 10h30-11h15 **Session poster et café**
Session poster M2 (présence demandée uniquement)
Session Poster Doctorants (3' + 2')
- 11h15-12h00 **Communications orales session 1**
Modérateur **Valentine Hoyau**, GGB, *Caractérisation des éléments cis-régulateurs du gène GJB2 impliqué dans les surdités non-syndromiques DFNB1*
Gwenolé Quellec **Clément Bézier**, LBAI, *Interest of biological drifts in the context of systemic autoimmune diseases: a topological data analysis approach*
Emie Delmas, LBAI, *Etude du rôle de PD-1 dans les lymphocytes B*
Pauline Kerleroux-Trebaol, LBAI, *Le rôle de la glycosylation dans l'acquisition de la fonction B régulatrice*
- 12h00-14h00 **Pause déjeuner- libre/Amuse-bouche sur place**

Après-midi

14h00-15h00

Modérateur

Maryline

Beyler

Dr Magali Gary-Bobo (Montpellier) invitée par CEMCA

Equipe « Glyco et Nanovecteurs pour le ciblage thérapeutique »

« Nanoparticules et molécules photoactivables pour le traitement des cancers. Etude de leur potentiel sur des modèles cellulaires et animaux adaptés »

15h00-15h30

Retour Mobilité Chloé

Présentation dernière capsule vidéo de l'IBSAM

Retour d'Expérience en tant que représentants Etudiants IBSAM (Chloé + Xavier)
Annonce et lancement de la campagne pour renouvellement des étudiants au CS de l'IBSAM

15h30-15h45

Modérateur

Christelle Le

Gall

Session Flash 2 : Présentations Flash 2 min + poster.

Loïc Couloigner, GGB, *Syndrome hyperferritinémie-cataracte : de l'analyse fonctionnelle de nouveaux variants à l'exploration de la variabilité phénotypique*

Cassandra Konan, GGB, *Impact de la déplétion du facteur d'épissage RBM22 sur le cycle cellulaire dans les néoplasies myélodysplasiques del(5q)*

Enora Le Rest, LIEN, *Etude de l'impact des neuropeptides tel que la substance p et le cgrp sur l'expression des jonctions serrées dans des cultures de keratinocytes humains.*

Mouhamed Bachir LY, LBAI, *Rôle du site de phosphorylation T389 de la protéine STIM1 sur sa topologie, sa présence et son activité à la membrane plasmique*

Mariam Simonnin, CEMCA, *Préparation de synthons éther-lipides, précurseurs de molécules amphiphiles photo-isomérisables*

15h45-16h30

[Session poster et café](#)

16h30-17h15

Modérateur

Soizig Garaud

Communications orales session 2

Eloïse Le Hir-Reynaud, GGB, *Haploinsuffisance du facteur d'épissage RBM22 et traitement au lénalidomide des néoplasies myélodysplasiques à del(5q)*

Van Trang Dinh, GGB, *Décryptage et exploitation comme cible thérapeutique du mécanisme permettant l'échappement au système immunitaire de l'oncovirus d'Epstein-Barr*

Inigo Clemente Larramendi, LBAI, *Associating deep learning with prior knowledge to predict the efficacy of targeted therapies in patients suffering autoimmune diseases. This thesis is part of Single cell in inflammatory autoimmune diseases (SIGNATURE)*

Rasha Faraj, GGB, *Setup of Functional Tests for the characterization and demonstration of the pathogenic effects of novel variants in the ARX gene*

17h15-17h30

Annonce prix communication, prix flash et prix poster,

Résultat AAP IBSAM 2024

Clôture

dialogues
LIBRAIRIE

Smart microscopy and FLIM of FRET biosensors for High Content Screening of kinase inhibitors

Marc Tramier, Rennes 1

The “Microscopy for Cell Biosensing” team develops techniques and methods for the dynamic monitoring of biochemical activities in living cells. The team developed a fastFLIM prototype (patented and transferred to the company Inscoper), a biosensor of AurkA kinase activities (Bertolin et al., Nat commun, 2016) and a methodology for screening kinase inhibitors by HCS-FLIM (Sizaire et al., MAF, 2020). Recently, in collaboration with Inscoper and Jacques Pécraux's team at IGDR, the team is developing an intelligent microscopy solution called Roboscope using real-time image analysis by artificial intelligence for the control of automated microscopy experiments (patent pending). The main idea is to combine our FRET biosensor approach with the Roboscope project, i.e. setting up automated intelligent microscopy in the context of HCS-FLIM on living cells for the screening of kinase inhibitors, which will allow the simultaneous monitoring of different cellular functions, in particularly in the context of cancer.

Présentation du conférencier

Pionnier de la technique de Fluorescence lifetime imaging microscopy (Flim) en France et responsable de l'équipe Microscopie de fluorescence quantitative à l'Institut de génétique et développement de Rennes1 .

Nanoparticules et molécules photoactivables pour le traitement des cancers. Etude de leur potentiel sur des modèles cellulaires et animaux adaptés.**Magali Gary Bobo**, Montpellier

Actuellement, le développement de modèles in vitro et in vivo en accord avec la règle des 3R (réduction, remplacement, raffinement) est d'une importance capitale. En effet, les activités de recherche ont besoin de techniques robustes et faciles à utiliser pour démontrer le potentiel d'imagerie et de thérapie de molécules ou nanoparticules innovantes synthétisées en vue d'une application biomédicale. Lors de cette conférence nous aborderons les différents modèles cellulaires et animaux disponibles, ainsi que les outils dont nous disposons pour étudier le potentiel anticancéreux de molécules et nanoparticules photoactivables pour le ciblage, l'imagerie, la délivrance de matériel génétique et la thérapie photodynamique des cancers solides.

Présentation de la conférencière

Le Dr Magali Gary-Bobo, est chargée de recherches au CNRS et co-directrice de l'équipe "Glyco et nanovecteurs pour le ciblage thérapeutique" à l'Institut des Biomolécules Max Mousseron de Montpellier (dirigé par Pascal Dumy). Elle est co-auteur de 136 publications et co-inventeur de 7 brevets. Elle a développé une expertise dans le domaine de la thérapie photodynamique des cancers et plus particulièrement sur dans le domaine du proche infrarouge, en utilisant des nanoparticules ou des petites molécules pour le ciblage, l'imagerie et la thérapie des cancers. Elle est également cofondatrice de la société NanoMedSyn qui développe des thérapies ciblées contre les cancers et les maladies rares.

Caractérisation des éléments *cis*-régulateurs du gène *GJB2* impliqué dans les surdités non-syndromiques *DFNB1*

Valentine Hoyau^a, Anaïs Le Nabec^a, Clara Blotas^a, Claude Férec^a, Jean-Christophe Leclère^b et Stéphanie Moisan^c

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

b- Département d'oto-rhino-laryngologie et de chirurgie cervico-faciale, CHU Brest, Univ Brest, EA4685, LIEN, F-29200 Brest, France

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

L'information génétique est portée par l'acide désoxyribonucléique (ADN) compacté sous forme de chromatine qui va avoir différentes échelles d'organisation. Une de ses échelles consiste en la formation de boucles de la chromatine, entraînant le rapprochement de régions éloignées. On observera notamment le rapprochement d'éléments *cis*-régulateurs (CRE) à des promoteurs pour influencer la régulation de gènes de façon spécifique dans le temps, l'espace et en fonction du type cellulaire. Le contrôle de l'expression des gènes est essentiel dans la mise en place des différents mécanismes tels que le développement, la différenciation ou le métabolisme cellulaire. Ainsi, une dérégulation de l'expression des gènes peut conduire à des pathologies.

Dans le cas présent, nous nous intéressons aux surdités récessives non-syndromiques *DFNB1*, représentant 1/3 des surdités congénitales. Ces surdités sont associées à des variations du gène *GJB2* et à de grandes délétions du locus *DFNB1*. Des cas de surdité *DFNB1* restant inexplicés, les grandes délétions du locus *DFNB1* pourraient entraîner la perte d'éléments *cis*-régulateurs de *GJB2*. Afin de vérifier ceci, des recherches se sont portées sur l'identification des régions *cis*-régulatrices de *GJB2*.

De précédentes études ont permis de proposer un modèle tridimensionnel de régulation et de mettre en évidence un *enhancer* important en condition endogène de *GJB2*. D'autres régions potentiellement impliquées dans la régulation restent à étudier à l'aide de la *circular chromosome conformation capture* (4C) et des tests d'activité. Les précédentes études ayant été menées sur des cellules des voies aériennes, les interactions seront confirmées avec des études de 4C sur des cultures primaires de cellules issues de l'oreille, obtenues avec un protocole de recherche non-interventionnelle, et sur des cellules provenant de la cochlée, prélevées chez la souris.

Références.

1- Moisan S, Le Nabec A, Quillévéré A, Le Maréchal C, Férec C. Characterization of *GJB2* *cis*-regulatory elements in the *DFNB1* locus. *Human Genetics*. 2019 Dec;138(11-12):1275-1286.

2- Le Nabec A, Blotas C, Briset A, Collobert M, Férec C, Moisan S. 3D Chromatin Organization Involving MEIS1 Factor in the *cis*-Regulatory Landscape of *GJB2*. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23(13): 6964.

Interest of biological drifts in the context of systemic autoimmune diseases: a topological data analysis approach

Clément Bézier^a, Valérie Devauchelle-Pensec^b, Nathan Foulquier^c, Jakez Rolland^d, Ronan Boutin^e

- a- 1. UBO, LBAI, INSERM, UMR 1227. 2. Bio Logbook, Nantes. clement.bezier1@etudiant.univ-brest.fr
- b- 1. Department of Rheumatology, Centre Hospitalier Universitaire de Brest. 2. UBO, LBAI, INSERM, UMR 1227.
- c- UBO, LBAI, INSERM, UMR 1227.
- d- 1. Bio Logbook, Nantes. 2. Nantes Université, Ecole Centrale Nantes, LS2N, CNRS, UMR 6004.
- e- Bio Logbook, Nantes

Topological data analysis is a new area of data science that takes into account the “shape” of high-dimensional data (1). The aim of the project is to test new topological approaches for identifying subgroups of patients with SADs, using antibodies, flowcytometry, cytokines, HLA, indels, whole blood transcriptomic, methylomic and metabolomic data from the PRECISESADS project.

For the time being, these concepts are being tested on real data as well as on a simulated dataset. This dataset was generated using multivariate normal distribution and Multinomial Log-linear Models (neural networks). Figure shows the conservation quality of variable distributions and correlations in the simulated dataset. Faced with the problem that it is difficult to observe topological structures if the number of dimensions is much greater than the number of points, we are interested in a way of selecting the most informative dimensions for projecting the point cloud into a geometric space. We are currently testing approaches based on the BORUTA algorithm (2) for selecting sets of representation spaces.

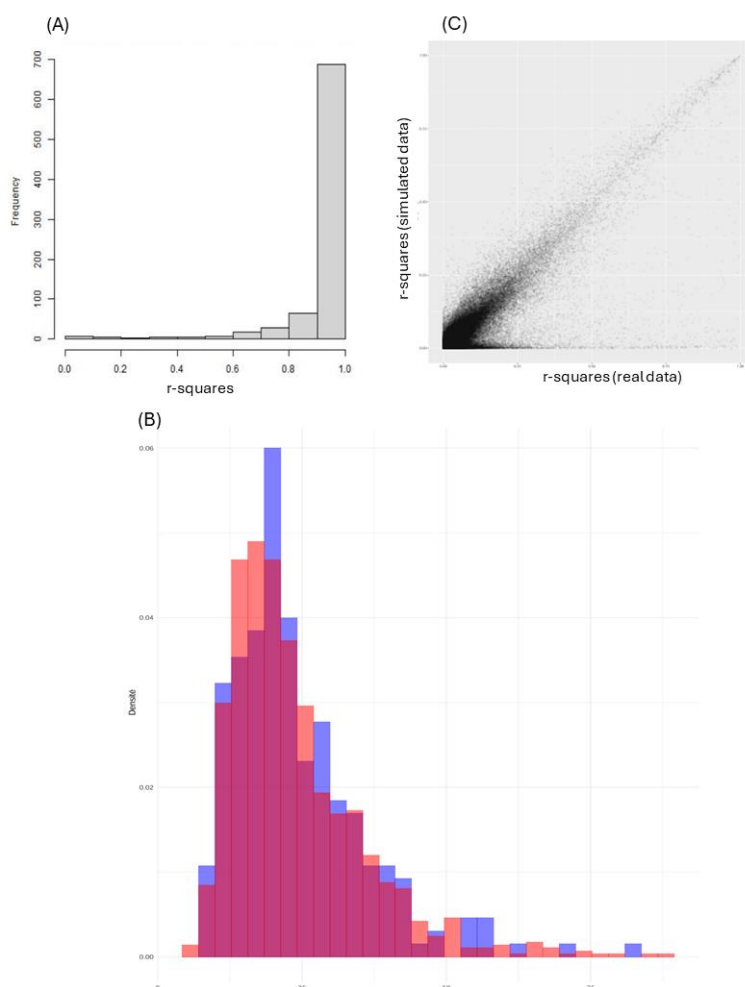


Figure: Conservation quality of variable distributions and correlations in the simulated dataset. (A) Histogram of linear model r^2 between real data ($N=229$) and simulated data ($N=229$). (B) Example histograms of PFLC autoantibodies in real data ($N=229$) in blue, and simulated data ($N=1000$) in red. (C) R^2 of linear models of variable pairs in simulated data, as a function of the same r^2 in real data.

Références.

1. Rabadan R, Blumberg AJ. Topological Data Analysis for Genomics and Evolution: Topology in Biology [Internet]. Cambridge: Cambridge University Press; 2019 [cited 2024 Apr 30]. Available from: <https://www.cambridge.org/core/books/topological-data-analysis-for-genomics-and-evolution/FCC8429FAD2B5D1525AEA47A8366D6EB>
2. Kurska MB, Jankowski A, Rudnicki WR. Boruta – A System for Feature Selection. Fundam Informaticae. 2010 Jan 1;101(4):271–85.

Etude du rôle de PD-1 dans les lymphocytes B

Emie Delmas^a, Pierre Pochard^a, Yuna Delarue^a, Divi Cornec^{a,b}, Sophie Hillion^{a,b}, Soizic Garaud^a

^a UMR 1227, LBAI, Univ Brest, Inserm, Brest, France

^b CHU Brest, Brest, France

La protéine PD-1 (protéine 1 de mort cellulaire programmée) exprimée à la surface des cellules immunitaires activées¹, joue un rôle crucial dans la tolérance immunitaire. Son implication dans les lymphocytes T (LT) a été largement étudiée, notamment dans les mécanismes d'évasion tumorale, conduisant au développement des thérapies ciblant les inhibiteurs de points de contrôle immunitaires. Cependant, son rôle dans la physiologie des lymphocytes B (LB) reste largement méconnu. Ce projet vise à caractériser les LB exprimant PD-1 qu'ils soient circulants ou tissulaires, en condition physiologique chez l'Homme.

Dans un premier temps nous avons étudié la présence de LB PD-1+ dans le sang de donneurs sains par cytométrie en flux. L'immunophénotypage a révélé que les LB PD-1+ représentent 4% de la population des LB circulants et sont majoritairement présents dans les LB mémoires et doubles négatifs.

Dans un second temps, nous avons étudié les mécanismes d'induction de PD-1 à la surface des LB *in vitro*. Après isolement à partir de sang, les LB ont été cultivés en présence de différentes stimulations pendant deux jours. Les analyses par cytométrie en flux ont démontré une augmentation significative de l'expression de PD-1 sur les LB en présence d'une stimulation du récepteur d'antigène (BCR) et du Toll-like receptor 9 (TLR9). Cette induction est amplifiée en présence d'interféron α . De plus, l'expression de marqueurs d'activation, tels que HLA-DR, CD25 et CD86, est significativement augmentée dans les LB PD-1+.

Enfin, nous avons étudié la présence des LB PD-1+ dans les organes lymphoïdes secondaires tels que les amygdales, les végétations et les rates. L'analyse par cytométrie en flux sur tissus frais a montré que les LB PD-1+ représentent 10% de la population cellulaire de LB dans les amygdales et 20% dans les végétations. L'immunohistochimie multiplex chromogénique sur des blocs de tissus paraffinés a démontré leur présence dans les zones extrafolliculaires, en interaction avec d'autres LB et des LT.

Nos résultats soulignent la présence de LB PD-1+ dans la circulation et les organes lymphoïdes secondaires humains, ainsi que le profil activé des LB PD-1+. Afin de mieux comprendre le rôle de PD-1 dans les LB, nous étudierons prochainement le transcriptome de ces cellules par séquençage des ARN. Nous examinerons la fonction moléculaire de la voie PD1/PDL1, et évaluerons leur contribution dans des contextes physiopathologiques tels que les maladies auto-immunes, les infections, et les cancers.

Références.

1- Agata Y, et al., Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. Int Immunol. 1996 May;8(5):765-72. doi: 10.1093/intimm/8.5.765. PMID: 8671665.

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

Pauline Kerleroux--Trebaol^a, Marie Morel^a, Divi Cornec^a, Pierre Pochard^b et Anne Bordron^a

a- LBAI UMR 1227 Université de Bretagne Occidentale, Brest, France

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

Les lymphocytes B régulateurs (Bregs) sont un sous-ensemble de lymphocyte B (LB) intervenant dans le contrôle de la réponse immunitaire. Leur induction passe par la mobilisation de différents récepteurs incluant le TLR9 et des molécules portées par les lymphocytes T (LT). Un défaut d'activité de ces cellules a été mis en évidence dans diverses maladies auto-immunes (MAI). Récemment nous avons démontré des modifications du glycoprofil des LB dans ces pathologies¹. La glycosylation est un processus ubiquitaire intervenant dans la physiologie cellulaire en modifiant leurs activités. Dans cette étude nous proposons d'étudier le glycoprofil des Bregs et d'évaluer son impact sur leurs activités immunomodulatrices.

Un modèle *in vitro* de coculture de LB/LT permet d'aboutir à la génération de LB aux propriétés régulatrices, potentialisée en présence de CpG (un ligand naturel du TLR9). A l'aide de lectines biotinylées (reconnaissant des motifs sucrés spécifiques), une étude du glycoprofil des Bregs a été réalisée par cytométrie en flux.

Une inhibition de la prolifération des LT a été observée, cette inhibition est augmentée en présence de CpG. Par rapport au glycoprofil des LB à jour 0, la coculture avec les LT s'accompagne d'une augmentation des motifs de la N-glycosylation, de la fucosylation et de la sialylation. L'ajout du CpG s'accompagne d'une diminution significative de la N-glycosylation du Breg.

Une meilleure compréhension de ces mécanismes nous permettra d'évaluer l'impact de la signature glycosidique sur l'acquisition de la fonction B regs par l'utilisation de drogues modifiant l'activité enzymatique en lien avec la glycosylation. Cela pourra établir si les défauts de glycosylation observés chez les patients atteints d'une MAI sont à l'origine de la perte d'efficacité des B regs et d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Références.

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

Haploinsuffisance du facteur d'épissage RBM22 et traitement au lénalidomide des néoplasies myélodysplasiques à del(5q)

Eloïse Le Hir-Reynaud^a, Benoit Soubise^a, Séverine Commet^{a,b}, Nadia Guegan^{a,b}, Corinne Tous^{a,b,c}, David Rombaut^d, Laurent Corcos^a, Michaela Fontenay^d, Nathalie Douet-Guilbert^{a,b,c}, Marie-Bérengère Troadec^{a,b,c}

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

^b CHRU Brest, Centre de Ressources biologiques –site de génétique chromosomique, Brest, France

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

^d INSERM U1016, Centre National Recherche Scientifique (CNRS) UMR8104, Institut Cochin, Université de Paris, Paris, France

Les Néoplasies Myélodysplasiques (SMD) sont des pathologies clonales des cellules de la moelle osseuse, caractérisées par des cytopénies, des dysplasies et une hématopoïèse inefficace. Les SMD présentent un risque accru d'évolution en Leucémie Aiguë Myéloïde. La délétion totale du chromosome 5 ou partielle du 5q [del(5q)] est l'anomalie chromosomique la plus fréquente¹. L'altération du processus d'épissage des pré-ARNm est un événement clé de la pathogenèse des SMD². Le gène *RBM22* code un facteur d'épissage localisé sur la région chromosomique 5q et est délété chez 92% des patients SMD à del(5q) de notre cohorte. Nous faisons l'hypothèse que l'haploinsuffisance de *RBM22*, due à la perte du 5q, joue un rôle majeur dans la pathogenèse des SMD à del(5q) et dans la réponse au traitement standard, le lénalidomide.

Nous montrons que la déplétion de *RBM22* dans des cellules MDS-L, lignée cellulaire de SMD à del(5q), perturbe le cycle cellulaire en ralentissant la phase S et la mitose, ralentissant la prolifération cellulaire. La déplétion de *RBM22* entraîne également une augmentation de la proportion de cellules polyploïdes. Ces altérations miment le phénotype des blastes des SMD à del(5q). Dans des cellules souches hématopoïétiques humaines CD34+, l'haploinsuffisance de *RBM22* dérégule l'expression génique et l'épissage des pré-ARNm, notamment concernant des gènes impliqués dans la réponse au traitement standard des SMD à del(5q) de bas risque : le lénalidomide. Nous démontrons que pour les cellules MDS-L déplétée pour *RBM22* et exposée au lénalidomide, la différenciation mégacaryocytaire et l'apoptose sont accentuées. Ces résultats suggèrent un rôle pour *RBM22* dans la sensibilisation des cellules au traitement.

Références.

1- Bernard, E., Nannya, Y., Hasserjian, R.P. *et al.* Implications of *TP53* allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes. *Nat Med* **26**, 1549–1556 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1008-z>.

2- Haferlach, T., Nagata, Y., Grossmann, V. *et al.* Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* **28**, 241–247 (2014). <https://doi.org/10.1038/leu.2013.336>

Décryptage et exploitation comme cible thérapeutique du mécanisme permettant l'échappement au système immunitaire de l'oncovirus d'Epstein-Barr

Van Trang Dinh¹, Nadège Loaëc¹, Alicia Quillévéré¹, Marc Keruzoré¹, Aline Peynet¹, Rodrigo Prado-Martins², Robin Fahraeus³, Marc Blondel¹

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

2- ISP, INRAE, Université de Tours, UMR1282, Tours, Nouzilly, France

3- Inserm UMRS 1131, Institut de Génétique Moléculaire, Université de Paris, Hôpital St. Louis, F-75010 Paris, France

Le virus Epstein-Barr (EBV) est le premier virus oncogénique décrit chez l'homme. Il infecte >90 % de la population et est responsable d'au moins 1% des cancers dans le monde. Comme tous les herpès virus, EBV est latent et échappe au système immunitaire. Cependant, il possède un talon d'Achille : sa protéine EBNA1 (*Epstein-Barr Nuclear Antigen 1*). En effet, EBNA1 est essentielle à la réplication ainsi qu'à la maintenance du génome viral, exprimée ainsi dans toutes les cellules infectées, mais en même temps très antigénique et les individus infectés par EBV contiennent des lymphocytes T CD8+ dirigés contre EBNA1. EBV a donc développé un mécanisme pour limiter l'expression de la protéine EBNA1 au niveau minimum nécessaire pour assurer sa fonction essentielle pour le virus, tout en limitant sa présentation antigénique, ce qui permet au virus d'échapper au système immunitaire.

Le but général de notre projet est de comprendre et disséquer ce mécanisme de façon à identifier des pistes pour interférer avec lui, ce qui devrait dévoiler au système immunitaire les cellules tumorales des cancers liés à EBV.

Les travaux précédents ont montré que la nucléoline (NCL), une protéine de la cellule hôte, interagit, via son motif RGG, avec les G-quadruplex (rG4) de l'ARNm d'EBNA1, limitant ainsi la traduction de ce dernier. La protéine EBNA1 contient elle aussi des motifs RGG et nous montrons que ces motifs RGG sont également capables d'interagir avec les rG4 de l'ARNm d'EBNA1, contribuant ainsi à l'inhibition de sa traduction. De plus, un rôle coopératif entre EBNA1 et NCL dans ce mécanisme a été observé. Ainsi, l'interaction entre les protéines EBNA1 et NCL ainsi que celle entre ces deux protéines et les rG4 de l'ARNm d'EBNA1 sont des cibles thérapeutiques pertinentes pour dévoiler au système immunitaire les cancers liés à EBV.

Références.

1- Dinh VT, Loaëc N, Quillévéré A, Le Sénéchal R, Keruzoré M, Martins RP, Granzhan A, Blondel M (2023) The hide-and-seek game of the oncogenic Epstein-Barr virus-encoded EBNA1 protein with the immune system: An RNA G-quadruplex tale. **Biochimie**.

2- Angrand G, Quillévéré A, Loaëc N, Dinh VT, Le Senechal R, Chenoufi R, Duchambon P, Keruzoré M, Martins RP, Teulade-Fichou MP, Fahraeus R, Blondel M (2022) Type I arginine methyltransferases are intervention points to unveil the oncogenic Epstein-Barr virus to the immune system. **Nucleic Acids Research**.

3- Lista MJ, Martins RP, Billant O, Contesse MA, Findakly S, Pochard P, Daskalogianni C, Beauvineau C, Guetta C, Jamin C, Teulade-Fichou MP, Fåhraeus R, Voisset C, Blondel M (2017) Nucleolin directly mediates Epstein-Barr virus immune evasion through binding to G-quadruplexes of EBNA1 mRNA. **Nature Communications**.

4- Murat P, Zhong J, Lekieffre L, Cowieson NP, Clancy JL, Preiss T, Balasubramanian S, Khanna R, Tellam J (2014). G-quadruplexes regulate Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen 1 mRNA translation. **Nature chemical biology**.

Associating deep learning with prior knowledge to predict the efficacy of targeted therapies in patients suffering autoimmune diseases. This thesis is part of Single cell in inflammatory autoimmune diseases (SIGNATURE)

Inigo Clemente Larramendi, Nathan Foulquier

a-Univ. Brest, Lymphocytes B, AutoImmunité et Immunothérapies (LBAI), UMR12227/INSERM/UBO

Résumé

We propose to integrate single cell RNA sequencing data from the three main diseases of SIGNATURE project: Systemic Lupus Erythematosus (SLE), Rheumatoid Arthritis (RA), Multiple Sclerosis (MS). From a balanced database of these autoimmune inflammatory diseases, we aim to annotate cell populations through standard protocols and transform genes to transcription factors regulons modules.

From these matrices we propose to apply DeepMAPS pipeline that embeds cells and TFs into the same dimensional space of 250 dimensions and use this latent space to feed an heterogenous graph transformer to learn important cell-TFs connections. Later, to this cell-TF network, we suggest a complementary TF-TF connection through a Bayesian GRN inference. This infertion method consists in using PRECISEADS European Project bulk RNA sequencing data of 2000 patients to extract validated connections from INNATE and STRING databases as apriori probability and distance correlation between sample normalized data as prospective data to obtain aposteriori probability as the edge score inferred.

From this complex network, we will apply scDeepSort approach to use Graph Attention Techniques to learn and modulate each cell and TF states. Once this is done, we will use omicsGAT approach to concatenate several fully connected layers that will compare networks from patients and learn how to classify them.

We expect this tool to highlight in precision and be highly explainable through saliency maps, differential centrality, and trajectory analysis we hope to understand the cells and TFs states responsible for the diseases. Therefore, we would develop a tool useful for the diagnosis and also in research to understand condition mechanism through hypothesis free approach that we would love to validate on targeted therapies response of 3TR European Project SLE patients

Setup of Functional Tests for the characterization and demonstration of the pathogenic effects of novel variants in the *ARX* gene

Rasha Faraj^a and Gaëlle Friocourt^a

a- INSERM, Université de Brest, EFS, UMR 1078, GGB, 29200 Brest, France.

Intellectual disability, a prevalent neurodevelopmental condition, represents a significant medical concern due to its debilitating nature. One of the most frequently mutated X-linked genes leading to such disabilities is the Aristaless-related homeobox gene (*ARX*) [1]. *ARX* encodes a transcription factor that is expressed in the nervous system, playing critical roles in vertebrate brain development [2]. The number and type of mutations identified in *ARX* in recent years continue to grow. Recently, data from newly identified patients with *de novo* pathogenic *ARX* variants, has been published, demonstrating a wide clinical spectrum, ranging from asymptomatic or mild phenotypes to severe manifestations and malformations [3].

Based on this, we performed functional analysis to characterize and examine the cellular consequences of several of such *ARX*-variants. The obtained results from Immunofluorescence assays of cells transfected with the different variants showed a mislocalization of the mutated-*ARX* protein, ranging from nuclear aggregates to abnormal perinuclear and cytoplasmic distribution, compared to the homogeneous distribution of the *ARX*-wild type protein in the nucleus. Examining the expression of *Lmo1*, one of the known *ARX* DNA target sequences, we found a deregulated pattern in nearly all the tested *ARX* variants, some showing a loss of function, others a gain of function, in comparison to the transcription repression activity, the primary function of the wild-type *ARX* on *Lmo1*. To understand the effect of the different groups of variants on the expression of direct and indirect *ARX* target genes, some of which are involved in the development of the nervous system during the embryonic stages, RT-qPCR was performed, and the results showed a differential and misregulated pattern of expression in nearly all the variants compared to the wild type *ARX*.

These findings possibly explain how such *ARX* variants may function, and what molecular pathogenic mechanisms they utilize that are consistent with the range of phenotypic disorders observed in patients.

Références.

- 1- Lisik M, Sieroń AL. *ARX*--jeden gen--wiele postaci niepełnosprawności intelektualnej [*ARX*--one gene--many phenotypes]. *Neurol Neurochir Pol.* **2008**; 42(4):338-344.
- 2-Friocourt G, Poirier K, Rakić S, Parnavelas JG, Chelly J. The role of *ARX* in cortical development. *Eur J Neurosci.* **2006**;23(4):869-876. doi:10.1111/j.1460-9568.2006.04629.x
- 3-Gras M, Heide S, Keren B, et al. Further characterization of *ARX*-related disorders in females due to inherited or *de novo* variants. *J Med Genet* **2023**. doi:10.1136/jmg-2023-109203

Projet Biplan : Impact des bactéries des microbiotes pulmonaire et intestinal sur la pharmacocinétique des modulateurs du CFTR.

Pierrick Boulic,^a Elena K. Schneider-Futschik^b, Corentin Paranthoë^a, Stéphanie Gouriou^a, Lourdes Velo-Suarez^a, Claudie Lamoureux^a, Geneviève Héry-Arnaud^a

a- Univ. Brest, unité Microbiota, INSERM 1078, UBO, CHU Brest pierrick.boulic@etudiant.univ-brest.fr

b- Université de Melbourne, Bio21 Institute, Department of Biochemistry & Pharmacology,
elena.schneiderfutschik@unimelb.edu.au

Le traitement de la mucoviscidose a connu une révolution avec la mise sur le marché des modulateurs du CFTR. Malgré une efficacité certaine, nous pouvons observer des variabilités de réponse au traitement.

La pharmacomicrobiomique est une discipline qui cherche à mettre en évidence l'action des bactéries sur les médicaments¹. La mucoviscidose étant connue pour sa double dysbiose, pulmonaire et intestinale, qui peut être variable d'un patient à l'autre, notre objectif est d'étudier si les principales bactéries de ces microbiotes ont un impact sur la pharmacocinétique des modulateurs du CFTR.

Nous avons sélectionné 23 souches bactériennes d'origine pulmonaire et intestinale. Chacune a été cultivée en contact ou non avec les 3 principaux modulateurs du CFTR : elexacaftor, tezacaftor et ivacaftor. La croissance bactérienne a été suivie par mesure de la DO à 600 nm et comptage sur boîtes de Petri. Les principes actifs et métabolites ont été dosés à différents temps en fonction de la demi-vie des molécules par spectrométrie de masse MRM³.

Nous avons ainsi mis en évidence que l'ivacaftor a une action antibiotique sur plusieurs souches des genres *Staphylococcus*, *Haemophilus*, *Prevotella*, *Bacteroides* et *Bifidobacterium*. Cet effet avait été décrit sur *S. aureus*⁴ mais il s'agit de la première étude qui démontre l'effet étendu d'un modulateur du CFTR sur d'autres bactéries clés. Les dosages des molécules et de leurs métabolites sont actuellement en cours (E. Schneider, Université de Melbourne, Australie).

En conclusion, nous démontrons que l'ivacaftor a une action antibiotique sur des bactéries des microbiotes pulmonaire et intestinal. Reste à déterminer si l'interaction est réciproque c'est-à-dire si les bactéries sont capables de métaboliser les modulateurs du CFTR.

Références.

1- Elaine F. Enright, Cormac G.M. Gahan, Susan A. Joyce, Brendan T. *Yale Journal of Biology and Medicine* 89, **2016**, pp.375-382

2- Françoise A and Héry-Arnaud G. *Genes*, **2020**, 11, 536

3- Felisa Reyes-Ortega, Fiona Qiu, and Elena K. Schneider-Futschik. *ACS Pharmacol. Transl. Sci*, **2020**.

4-Ritesh Thakare, Alok Kumar Singh, Swetarka Das, N. Vasudevan, Gorakhnath R. Jachak, D. Srinivasa Reddy, Arunava Dasgupta, Sidharth Chopra. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2017**, 50, 389–392

Etude des régions régulatrices impliquées dans les pathologies liées au gène *CFTR*

Mathilde Brière^a, Clara Blotas^a, Emmanuelle Masson^{a,b}, Claude Férec^a, Stéphanie Moisan^{a,b}

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

b - CHU Brest, F-29200 Brest, France

ABSTRACT

Il a été mis en évidence que l'altération du gène *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) peut induire la mucoviscidose ou des formes frontières mono-organe (*CFTR*-RD) telles que l'agénésie bilatérale des canaux déférents (ABCD) et la pancréatite. Depuis son identification en 1989, plus de 2 000 variations ont été répertoriées sur le gène *CFTR* dans la littérature scientifique. Cependant, la corrélation entre le génotype et le phénotype, c'est-à-dire entre les variants observés sur ce gène et les manifestations cliniques, reste encore incomplète pour certains patients. Nous nous intéressons donc ici aux éléments *cis*-régulateurs (CREs) qui sont des régions d'ADN non-codantes capables de réguler l'expression d'un gène d'intérêt initialement à distance, grâce au rapprochement physique étroit induit par le repliement des boucles de chromatine.

L'ensemble de cette étude est mené sur l'ADN d'une cohorte de 96 patients atteints de pancréatite, en collaboration avec le CHU de Brest ; ainsi que sur deux types cellulaires : une lignée pancréatique (Capan-1) et des cellules primaires épидидymaires (PE). Des variants identifiés dans des CREs candidats (cCREs) ont d'abord été validés par séquençage Sanger. Nous étudions ainsi leur impact par des analyses fonctionnelles avec tests d'activité tissu-spécifique. En outre, nous ouvrons notre étude avec la recherche de variants, par séquençage Sanger, au sein des exons 1 à 6 du domaine kinase de la protéine WNK1. En effet, une récente publication a mis en évidence l'interaction physique directe entre ce domaine de la protéine WNK1 et *CFTR*, régulant l'activité du canal *CFTR* avec l'augmentation des échanges d'ions bicarbonates (Kim *et al.*, 2020).

Références.

- 1- C. Blotas, C. Férec et S. Moisan. **2023**. « Tissue-Specific Regulation of *CFTR* Gene Expression ». *International Journal of Molecular Sciences* 24(13): 10678.
- 2- M. Collobert, O. Bocher, A. Le Nabec, E. Génin, C. Férec et S. Moisan. **2021**. « *CFTR* Cooperative Cis-Regulatory Elements in Intestinal Cells ». *International Journal of Molecular Sciences* 22(5): 2599.
- 3- C. Férec. **2021**. « Cystic fibrosis: From gene discovery to precision medicine ». *Medecine Sciences: M/S* 37(6-7): 618-24.
- 4- Y. Kim, I. Jun, D. Shin, J. Yoon, H. Piao, J. Jung, H. Park, M. Hongying Cheng, I. Bahar, D. Whitcomb, M. Lee. **2020**. « Regulation of *CFTR* Bicarbonate Channel Activity by WNK1: Implications for Pancreatitis and *CFTR*-Related Disorders ». *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* 9(1): 79-103.

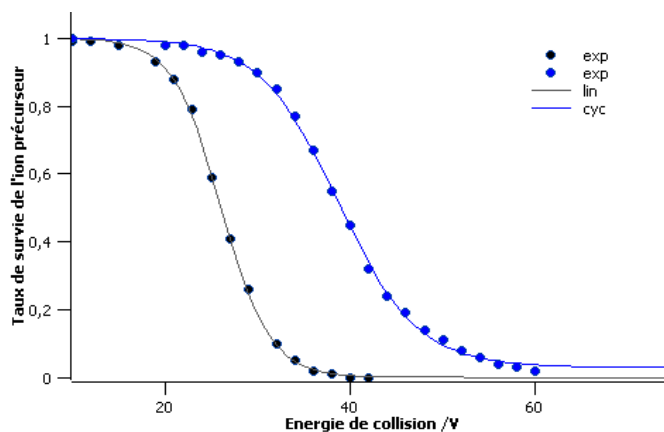
Développement analytique par spectrométrie de masse pour des peptides cycliques bioactifs

Atlantis Daunay, Alicia Maroto and Antony Memboeuf*

Univ. Brest, CNRS, UMR 6521 CEMCA, Brest.

Les peptides cycliques ont un potentiel considérable dans le cadre du développement de nouveaux agents thérapeutiques et outils biochimiques du fait de leurs propriétés uniques de rigidité, de spécificité et de stabilité.[1] Ils peuvent être obtenus de diverses manières, notamment par un procédé de chimie clic après fonctionnalisation des bouts de chaîne par des groupes alcynes ($R-C\equiv C-H$) et azoture ($R-N_3$). Dans ce cas, les précurseurs et produits de synthèse sont des isomères dits topologiques. Afin d'en faire une utilisation thérapeutique, il est nécessaire de pouvoir quantifier et détecter la pureté du produit final. Si la spectrométrie de masse est la technique de choix pour l'analyse de peptides, distinguer et quantifier des composés isomères dans des mélanges demeure une tâche difficile.

Diverses techniques ont ainsi été développées, utilisant le couplage chromatographique[2] ou la séparation par mobilité ionique[3]. Malheureusement, ces méthodes augmentent le coût et/ou la complexité du processus d'analyse. À cet égard, la fragmentation en phase gaz des analytes lors d'expériences de spectrométrie de masse en mode tandem (MS/MS) par dissociation induite par collision (CID) avec un gaz inerte (CID MS/MS) est une alternative intéressante, notamment en utilisant les modes d'acquisition SRM/MRM[4] ou la méthode cinétique[5]. Plus récemment, nous avons utilisé la CID MS/MS résolue en énergie et la technique des ions survivants afin d'identifier et de quantifier de tels isomères topologiques en mélange[6]. Dans le cadre de ce travail, nous avons cherché à déterminer les conditions analytiques optimales en modifiant la pression du gaz de collision pour des peptides de structures différentes.



Références.

- 1- S.H. Joo; *Biomol Ther (Seoul)*, **20**(1), 2012.
- 2- M. Bellumori et al.; *Pharmaceuticals*, **16**, 1375 (2023).
- 3- J. May et al.; *Anal. Chem.*, **92**, 9482-9492 (2020).
- 4- H. Ebhardt; *Plant Proteomics in Methods Mol. Biol.*, vol 1072, 209-222 (2014).
- 5- R. Cooks et al.; *Mass Spectrom. Rev.*, **13**, 287-339 (1994).
- 6- D. Jeanne Dit Fouque, A. Maroto and A. Memboeuf ; *Anal. Chem.*, **88** (22), 10821-10825 (2016) ; *Anal. Bioanal. Chem.*, **410**, 5765-5777 (2018).

Impact des modifications post-traductionnelles de la protéine STIM1 sur sa présence, sa topologie et son activité à la membrane plasmique

Maela Hus^a, Julie Guellec^b, Mouhamed Bachir Ly^a, Olivier Mignen^{a,b}

a- LBAI, UMR1227, Univ Brest, Inserm, Brest, France, maela.hus@univ-brest.fr

b- KALSIOM SAS, Brest

Stromal Interaction Molecule 1 (STIM1) est une protéine ubiquitaire localisée en condition physiologique à la membrane du réticulum endoplasmique (RE) où elle régule l'influx calcique activé par la libération des réserves calciques contenues dans le RE (Store-Operated Calcium Entry : SOCE) [1]. Dans certaines conditions pathologiques, STIM1 est aussi présente à la membrane plasmique (STIM1_{PM}) où elle régule un autre influx calcique, l'Entrée Constitutive de Calcium (ECC) [2]. L'ECC participerait à la dérégulation de la signalisation calcique des lymphocytes B de patients atteints de maladies auto-immunes telles que le lupus ou d'hémopathies telle que la leucémie lymphoïde chronique. STIM1_{PM} a été identifiée comme une cible thérapeutique pour le traitement de ces maladies. A ce jour, la présence de STIM1 à la membrane plasmique en contexte pathologique n'est pas expliquée. Nous émettons l'hypothèse que les modifications post-traductionnelles (MPT) de STIM1 telles que la glycosylation ou la phosphorylation influencent le trafic cellulaire et donc la localisation de la protéine. Certaines MPT de STIM1 sont régulées par des voies de signalisation dépendantes du Ca²⁺, telles que la voie des « Extracellular signal-Regulated Kinases » (ERK1/2) [3] et de la Calmoduline. Le rôle de l'ion Ca²⁺ dans la localisation et la topologie de STIM1_{PM} n'est pas connu. A partir d'un modèle cellulaire surexprimant la protéine STIM1, les effets du Ca²⁺ sur la présence et la topologie de STIM1_{PM} sont étudiés par complémentation en luminescence (système NanoBiT®).

Références.

[1] Roos J, DiGregorio PJ, Yeromin AV, Ohlsen K, Liudyno M, Zhang S, Safrina O, Kozak JA, Wagner SL, Cahalan MD, Veliçelebi G, Stauderman KA. STIM1, an essential and conserved component of store-operated Ca²⁺ channel function. *J Cell Biol.* 2005 May 9;169(3):435-45.

[2] Debant M, Burgos M, Hemon P, Buscaglia P, Fali T, Melayah S, Le Goux N, Vandier C, Potier-Cartereau M, Pers JO, Tempescul A, Berthou C, Bagacean C, Mignen O, Renaudineau Y. STIM1 at the plasma membrane as a new target in progressive chronic lymphocytic leukemia. *J Immunother Cancer.* 2019 Apr 23;7(1):111.

[3] Pozo-Gulsado E, Campbell D, Deak M, Alvarez-Barrlentos A, Morrice N, Alvarez I, Alessi D, Martin-Romero F. Phosphorylation of STIM1 at ERK1/2 target sites modulates store-operated calcium entry. *J Cell Science.* 2010 June 17;123:3084-3093.

Identification of transcriptome changes within multiple immune cells transcriptomes in Sjögren disease through traditional, multi-omics and network

Abdel Yaya oye akibou,^a Cristian Iperi^b, Christophe Jamin^c

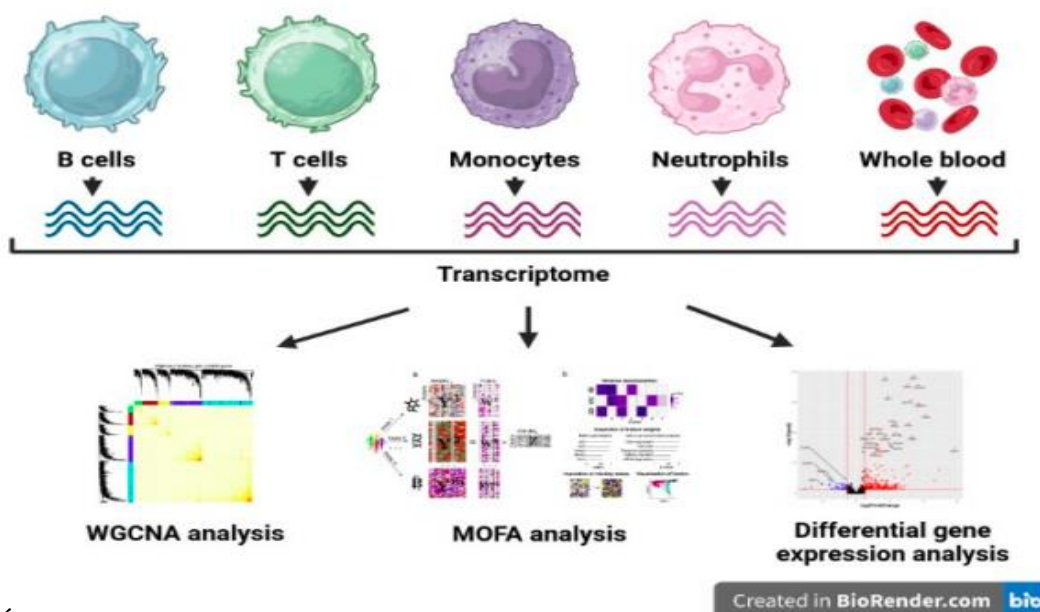
a- Univ. Brest, LBAI, UMR1227 INSERM/UBO yayaoyeakibouabdelhans@gmail.com ; b- Univ. Brest, LBAI, UMR1227 INSERM/UBO ; c- Univ. Brest, LBAI, UMR1227 INSERM/UBO

The Sjögren's syndrome, a common autoimmune disease, leads to dysfunction of the secretory glands, characterized by dryness of the eyes, mouth, and mucous membranes [1]. Its diagnosis, based on established criteria and biological analyses, remains complex, and targeted treatment is not yet available [2].

This study explores a hypothesis-free, data-driven approach to identify patterns of gene correlations among different cell types, aiming to understand the underlying mechanisms of the disease pathogenesis.

Using multi-omics analyses, we will compare the transcriptomes of B and T lymphocytes, monocytes, and neutrophils in patients with Sjögren's syndrome and healthy subjects. This analysis, conducted with DESeq2 for conventional differential analysis, will be complemented by MOFA to identify common variability and by mWGCNA to integrate gene expression data from different cell types.

Our goal is to discover new biomarkers and understand molecular interactions to better comprehend the biological processes involved in Sjögren's syndrome.



Références.

- 1- Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Siso-Almirall A, Bosch X (2012) Syndrome primaire de Sjogren. BMJ 344: e3821
- 2- Liu X, Wang H, Wang X, Jiang X, Jin Y, Han Y, Zhang Z. Identification and verification of inflammatory biomarkers for primary Sjögren's syndrome. Clin Rheumatol. 2024 Apr;43(4):1335-1352. doi: 10.1007/s10067-024-06901-y. Epub 2024 Feb 20.

Syndrome hyperferritinémie-cataracte : de l'analyse fonctionnelle de nouveaux variants à l'exploration de la variabilité phénotypique

Loïc Couloigner^{a,b}, Chandran Ka^{a,b}, Isabelle Gourlaouen^a, Carine L'Hostis^a, Virginie Scotet^a, Gérald Le Gac^{a,b}

a- Univ. Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB

b- Service de génétique médicale, CHU de Brest, Brest

Le syndrome hyperferritinémie-cataracte est une pathologie génétique rare qui touche environ 1 personne sur 200 000. Elle est causée par des mutations localisées dans la région 5'UTR du gène *FTL*, codant la sous-unité légère de la ferritine. Ces mutations empêchent la fixation de protéines IRPs (Iron Regulatory Proteins) sur la séquence IRE (Iron Responsive Element) de l'ARN messenger, et la régulation négative de la traduction de la protéine *FTL*¹. Cela conduit à une synthèse aberrante de ferritine, précipitant dans le cristallin et entraînant une cataracte^{2,3}. De nombreux variants pathogènes sont décrits mais il existe une variabilité génétique et phénotypique importante, sans corrélation génotype-phénotype évidente.

Une cohorte de 29 patients recrutés à Brest avec un variant en 5'UTR du gène *FTL* a été constituée. Des plasmides contenant le gène codant la luciférase en aval de la région 5'UTR_*FTL* ont été transfectés dans des cellules HepG2 pour estimer le niveau de synthèse de la protéine *FTL* à partir de la séquence IRE de type sauvage et 20 séquences mutées. Ces tests ont permis de montrer l'impact fonctionnel de 3 variants : c.-144A>T, c.-160A>T et c.-159G>T. Le premier ayant déjà été décrit par une équipe française sans avoir été étudié *in vitro*.

Cette cohorte a été complétée par 439 patients issus de la littérature, et a permis d'établir des corrélations entre la sévérité clinique et : (1) la localisation des variants pathogènes le long du motif IRE, et (2) la nature du changement nucléotidique à une position donnée. Les tests d'activité luciférase concordent avec les corrélations génotype-phénotype. Des tests *in vitro* complémentaires (retard sur gel testant la liaison des protéines régulatrices IRPs au motif IRE), sont en cours afin d'explorer plus en profondeur cette hypothèse.

Références.

1. Hentze, M. W. & Kühn, L. C. Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide, and oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **93**, 8175–8182 (1996).
2. Beaumont, C. *et al.* Mutation in the iron responsive element of the L ferritin mRNA in a family with dominant hyperferritinaemia and cataract. *Nat Genet* **11**, 444–446 (1995).
3. Brooks, D. G. *et al.* Ferritin crystal cataracts in hereditary hyperferritinemia cataract syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **43**, 1121–1126 (2002).

Impact de la déplétion du facteur d'épissage *RBM22* sur le cycle cellulaire dans les néoplasies myélodysplasiques del(5q)

Cassandra Konan^a, Eloïse Le Hir-Reynaud^a, Benoit Soubise^a, Séverine Commet^{a,b}, Nadia Guegannic^{a,b}, Corinne Tous^{a,b,c}, David Rombaut^d, Laurent Corcos^a, Michaela Fontenay^d, Nathalie Douet-Guilbert^{a,b,c}, Marie-Bérengère Troadec^{a,b,c}

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

^b CHRU Brest, Centre de Ressources biologiques –site de génétique chromosomique, Brest, France

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

^d INSERM U1016, Centre National Recherche Scientifique (CNRS) UMR8104, Institut Cochin, Université de Paris, Paris, France

Les néoplasies myélodysplasiques (SMD) sont des hémopathies clonales de la moelle osseuse, caractérisées par une hématopoïèse inefficace, provoquant une différenciation anormale des progéniteurs myéloïdes et des cytopénies périphériques. Ces pathologies sont classées en plusieurs entités selon les anomalies cytogénétiques et le nombre de blastes dans la moelle osseuse ou dans le sang¹. Ainsi, on distingue les SMD del(5q), marquées par la délétion du chromosome 5q et présentant un meilleur pronostic lorsque celle-ci est isolée, ou associée à toute autre délétion sauf celle du chromosome 7q, avec une possibilité réduite d'évolution en leucémie aigüe myéloïde. Des études ont montré la présence de plusieurs mutations au niveau des gènes de l'épissage dans tous les SMD excepté les SMD del(5q) où uniquement des haploinsuffisances pour ces gènes ont été observées. Pour notre étude, nous nous intéressons au gène *RBM22* qui code pour une protéine de liaison à l'ARN impliquée dans la transcription et l'épissage des ARN pré-messagers. C'est une protéine essentielle de l'épissosome, située dans la partie fréquemment délétée du chromosome 5q². Les recherches menées par notre groupe sur les cellules de la lignée MDS-L, provenant de blastes d'un patient atteint de SMD del(5q), ont révélé une baisse de la prolifération, une augmentation de la ploïdie et un ralentissement des phases S et M lorsque *RBM22* est déplété. Pour poursuivre sur cette piste, nous nous focalisons sur l'impact de la déplétion de *RBM22* sur le cycle cellulaire par l'étude de l'expression de cyclines (protéines kinases essentielles modulatrices du cycle cellulaire), dans ces cellules synchronisées en phases M ou G1, dans 3 conditions : sous et surexpression de *RBM22* ainsi qu'en présence de lénalidomide.

Références.

1- Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. **juill 2022** ;36(7):1703-19.

2- Douet-Guilbert N, Soubise B, Bernard DG, Troadec MB. Cytogenetic and Genetic Abnormalities with Diagnostic Value in Myelodysplastic Syndromes (MDS): Focus on the Pre-Messenger RNA Splicing Process. *Diagnostics*. **juill 2022** ;12(7):1658.

ETUDE DE L'IMPACT DES NEUROPEPTIDES TEL QUE LA SUBSTANCE P ET LE CGRP SUR L'EXPRESSION DES JONCTIONS SERREES DANS DES CULTURES DE KERATINOCYTES HUMAINS.

Enora Le Rest^a, Ianis Cousin^b, Raphael Leschiera^c, Nicolas Lebonvallet^d, Philine de Vries^e

a- Univ. Brest, Laboratoire Interactions Epithéliums Neurons (LIEN), EA 4685, UBO, enora.lerest@etudiant.univ-brest.fr

b,c,d,e- Univ. Brest, LIEN, EA 4685, UBO.

La peau, le plus grand organe du corps humain, participe au maintien de l'homéostasie corporelle. Elle joue notamment le rôle crucial de barrière physique, chimique et biologique. Les structures de jonctions intercellulaires sont essentielles à cette barrière (1). Bien que la peau soit richement innervée et que cette innervation semble influencer ses fonctions (2), le lien entre le système nerveux périphérique et les jonctions intercellulaires reste peu exploré.

Cette étude s'attache à évaluer l'impact des neuropeptides, tels que la Substance P (SP) (3) et le Calcitonine Gene-Related Peptide (CGRP), sur l'expression des jonctions inter-kératinocytes. Des cultures primaires de kératinocytes humains ainsi que des explants de peau humaine ont été exposés pendant 48h à des concentrations croissantes de SP et de CGRP. L'expression des protéines de jonction (Zonula Occludens-1, Claudine 1 et E-Cadhérine) a été analysée à la fois au niveau transcriptionnel par RT-qPCR et au niveau protéique par Western-blot, immunocytochimie et immuno-histochimie. De plus, la fonction barrière a été évaluée en mesurant la perte d'eau transépithéliale d'explants de peau (TEWL Trans-Epithelial-Water-Loss).

Les résultats préliminaires montrent une augmentation des transcrits de ZO-1 en RT-qPCR après exposition des kératinocytes à la SP ou au CGRP à 10^{-10} mol/L. En revanche, en Western-blot, le CGRP ne semble pas influencer l'expression des protéines de jonction des kératinocytes ; alors que la SP entraîne une augmentation de ZO-1. Par ailleurs, la TEWL diminue en présence de surnageant de culture de neurones. Ces résultats suggèrent l'implication des neuropeptides, notamment de la SP, dans la fonction barrière cutanée. Des travaux futurs impliquant les antagonistes de la SP seront nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

Références.

1. Kirschner N, M Brandner J. Barriers and more: functions of tight junction proteins in the skin - 2012 - Annals of the New York Academy of Sciences - Wiley Online Library.
2. Rosa JB, Nassman KY, Sagasti A. Sensory axons induce epithelial lipid microdomain remodeling and determine the distribution of junctions in the epidermis. 2021. **Molecular Biology of the Cell**.
3. Ko JA, Yanai R, Nishida T. Up-regulation of ZO-1 expression and barrier function in cultured human corneal epithelial cells by substance P. 2009. Federation of European Biochemical Societies

Rôle du site de phosphorylation T389 de la protéine STIM1 sur sa topologie, sa présence et son activité à la membrane plasmique

Mouhamed Bachir LY^a, Maela Hus^a, Olivier Mignen ^{a-b},

a- LBAI, UMR 1227 INSERM, Université Brest, France

b- Kalsiom SAS, Faculté de Médecine et de Science de la santé, Brest, France

La protéine Stromal Interaction Molecule 1 (STIM1), principalement localisée dans le réticulum endoplasmique (RE), agit comme un capteur de calcium. Lorsque le RE se décharge de calcium en réponse à un signal cellulaire, STIM1 est activée et transmet le signal vers les canaux calciques à la membrane plasmique, induisant l'entrée de calcium dans le cytosol, un processus appelé entrée de calcium activée par le stockage (SOCE)[1]. En plus de son rôle dans SOCE, STIM1 régule également l'entrée constitutive de calcium (ECC) et l'influx ARC, notamment dans des contextes pathologiques comme la leucémie lymphoïde chronique (LLC)[2]. Une hypothèse selon laquelle l'impact des modifications post-traductionnelles telles que la phosphorylation et la glycosylation a été avancée. Des études récentes ont montré l'importance du site de phosphorylation T389 de STIM1 dans l'activation de SOCE via les canaux ARC[3]. Cependant, il serait intéressant d'explorer le rôle de ce site de phosphorylation sur la topologie, la présence et l'activité de STIM1 à la membrane plasmique. Dans cette étude, nous nous sommes fixés comme objectif d'apporter des éléments de réponse à cette problématique en utilisant un modèle cellulaire (HEK293) n'exprimant pas la protéine STIM1 endogène et en utilisant diverses approches telles que la cytométrie en flux, le Western blot, la RT-qPCR, la complémentation NanoBiT et la technologie Flex-station pour mesurer l'activité SOCE et l'ECC.

Références.

- [1] J. Liou *et al.*, « STIM1 is a Ca²⁺ Sensor Essential for Ca²⁺-Store-Depletion-Triggered Ca²⁺ Influx », *Curr Biol*, vol. 15, n° 13, p. 1235-1241, juill. 2005, doi: 10.1016/j.cub.2005.05.055.
- [2] M. Debant *et al.*, « STIM1 at the plasma membrane as a new target in progressive chronic lymphocytic leukemia », *J Immunother Cancer*, vol. 7, p. 111, avr. 2019, doi: 10.1186/s40425-019-0591-3.
- [3] J. L. Thompson et T. J. Shuttleworth, « Anchoring protein AKAP79-mediated PKA phosphorylation of STIM1 determines selective activation of the ARC channel, a store-independent Orai channel », *J Physiol*, vol. 593, n° Pt 3, p. 559-572, févr. 2015, doi: 10.1113/jphysiol.2014.284182.

issues »

Préparation de synthons éther-lipides, précurseurs de molécules amphiphiles photo-isomérisables

Mariam Simonnin^a, Hélène Couthon^a, Paul-Alain Jaffrès^a, Gérald Le Gac^b, Chandran Ka^b

a- Univ. Brest, CEMCA/UMR CNRS 6521/UBO cemca.cnrs@univ-brest.fr

b- Univ. Brest, GGB/UMR INSERM 1078/UBO secretariatU1078@inserm.fr

Les éther-lipides, de squelette glycérol, sont naturellement présents dans de nombreux organismes vivants, y compris les humains. Ils constituent une classe de lipides présentant des rôles structuraux et des fonctions biologiques spécifiques. Les alkyl éther lipides et les alcényl éther lipides (plasmalogènes) correspondent aux deux classes d'éther lipides naturels. La découverte en 1979 de la structure du facteur d'activation plaquettaire (PAF) qui appartient à la classe des alkyl éthers de lipides a accru l'intérêt pour les éthers lipidiques initié à la fin des années 60 avec le développement de l'Edelfosine qui a été étudiée comme agent anticancéreux. Plus récemment, des analogues de l'Edelfosine comme l'Ohmlin (lipide glyco- glycéro-éther développé au laboratoire¹) qui s'est révélé beaucoup moins toxique que l'Edelfosine, démontrent l'intérêt de cette classe de composés comme modulateur sélectif de canaux ioniques. Ces résultats ont ouvert la voie au développement de composés amphiphiles comme puissants modulateurs sélectifs de protéines membranaires. L'intérêt croissant pour ce type de composés pour les recherches fondamentales et appliquées nous conduit à étudier des méthodologies pour préparer des éthers lipidiques, notamment dotés d'un interrupteur moléculaire afin de contrôler l'intégration des amphiphiles dans la membrane par la lumière et ainsi contrôler la modulation des protéines membranaires. L'idée va être d'introduire un motif azobenzène dans la chaîne grasse de l'éther-lipide, qui est un motif photoisomérisable.

Références

- (a) A. Girault, J.P. Haelters, M. Potier, A. Chantôme, M. Pineau, S. Marionneau-Lambot, T. Oullier, G. Simon, H. Couthon-Gourvès, P.A. Jaffrès, V. Joulin, B. Corbel, P. Bougnoux, C. Vandier, *Current Cancer Drug Target*, 2011, 11, 1111-1125.
- (b) F.E. Herrera, C. M. Sevrain, P. A. Jaffrès, H. Couthon, A. Grélard, E. J. Dufourc, A. Chantôme, M. Potier-Cartereau, C. Vandier, A. M. Bouchet, *ACS Omega*, 2017, 2, 6361-6370.
- (c) Sevrain C.M., Bauduin A., Couthon H., Jaffrès P.A., Fontaine D., Gueguinou A., Chantôme A., Mahéo K., Vandier C., Zhangbeil L., Pasqualin C., Maupoil V. *Org. Biomol. Chem.*, 2021, 19, 2753-2766.
- (d) Bauduin A., Papin M., Chantôme A., Couthon H., Deschamp L., Requejo-Isidro J. Vandier C., Jaffrès P.A. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 209,112894.(e) Papin M., Guimaraes C., Pierre-Aue B., Fontaine D., Pardessus J., Couthon H., Fromont G., Maheo K., Chantôme A., Vandier C., Pinault M. *Mar. Drugs* 2022, 20, 270 « Development of a High- Performance Thin-Layer Chromatography Method for the Quantification of Alkyl Glycerolipids and Alkenyl Glycerolipids from Shark and Chimera Oils and Tissues »

Alternative splicing of the apoptosis regulator gene *MCL-1* is controlled by G-quadruplex of its pre-mRNA

Aline Peynet,^a Marc Kéruzoré^a, Alicia Quillévére^a, Ronan Le Sénéchal^b, Nadège Loaëc^a, Van-Trang Dinh^a, Anton Granzhan^c and Marc Blondel^a

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

b- Department of Biochemistry and Molecular Biophysics, Columbia University, New York, NY 10032, USA.

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

Apoptosis is a genetically-programmed cell death mechanism which plays a crucial role notably in cancer. *MCL-1* is a major regulator of apoptosis. Its pre-mRNA undergoes an alternative splicing (AS) which leads to two major antagonistic isoforms: a long canonical anti-apoptotic isoform (Mcl-1_L), and a short alternative pro-apoptotic isoform (Mcl-1_S). This AS pattern is similar to the one of *BCL-x*, another master regulator of apoptosis of the Bcl-2 family. Deregulation of AS of these genes is almost systematically found associated to cancers. We have recently shown that *BCL-x* AS is regulated by the interaction between the splicing factor RBM25 and a G-quadruplex (rG4), a non-canonic RNA secondary structure, that forms in its pre-mRNA. Here we found that overexpression of RBM25 leads to an increase of Mcl-1_S. *In silico* predictions unraveled two potential rG4 sequences, PQS3 and PQS4, near the alternative splice sites of *MCL-1*. Destabilization of at least one of these PQS, strongly favors the pro-apoptotic isoform, Mcl-1_S. Furthermore, treatment of various cell lines with the rG4 ligand PhenDH8, or overexpression of RBM25, also leads to an increase of Mcl-1_S, as observed for *BCL-x*. Finally, overexpression of RBM25 deleted for one or another of these domains led to the identification of its RE domain as the one important for RBM25 interaction with rG4, similarly to what we have shown for *BCL-x* AS. Taken together, these results suggest that a common mechanism involving RBM25 binding to rG4 of their pre-mRNA may control AS of both *BCL-x* and *MCL-1*, two major apoptosis regulatory genes, and points out to original and relevant therapeutic targets to promote both Mcl-1_S and Bcl-x_S isoforms and therefore interfere with chemotherapy resistance in cancer.

Références.

1- R. Le Sénéchal, M. Keruzoré, A. Quillévére, N. Loaëc, V-T. Dinh, O. Reznichenko, P. Guixens-Gallardo, L. Corcos, M-P. Teulade-Fichou, A. Granzhan, M. Blondel. *Nucleic Acids Research*, **2023**

2- A. Tyson-Capper, H. Gautrey. *RNA Biology*, **2018**

Gene therapy and modulator treatments for Cystic fibrosis: a combined therapeutic approach

X. Buin¹, R. Ghanem^{1,2}, N. Benz¹, M. Berchel³, P. Trouvé¹, T. Montier^{1,2}

¹Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France.

²CHU Brest, Service de Génétique humaine et Biologie de la reproduction, F-29200 Brest, France.

³Univ Brest, CNRS, CEMCA UMR 6521, Brest, France.

Abstract :

Nowadays, the pharmacological approach based on Modulators is one of the main strategies to treat people with Cystic Fibrosis (pwCF). Indeed, these molecules have considerably improved the pwCF lung capacity and quality of life. Trikafta® (combination of CFTR correctors and potentiator) for instance, enables a gain of 10% of FEV₁. However, about 30% of pwCF in France still suffer from pulmonary complications because they do not take these treatments. In addition, various and numerous side effects are related to their use such as infection and depression. Other molecules, as nesolicaftor, acting on *CFTR* mRNA are currently under investigations. It is a CFTR amplifier that stabilizes *CFTR* mRNA and, therefore, allows an increase of the amount of CFTR protein. Although clinical trials did not demonstrate any significant result on pwCF pulmonary function, CFTR protein level in patient's nasal mucosa was higher meaning that this molecule could represent an interest for pwCF. On the other hand, gene therapy still represents a potential alternative approach owing to its mutation independence nature and its high level of innocuity. However, last clinical trial showed that lipid-based gene therapy alone is yet not enough efficient to significantly change the clinical state of patients. Here we studied the possible impact of the CFTR amplifier nesolicaftor, on transgene expression following lipid-based nanoparticles. Our hypothesis assumed that nesolicaftor could act on h*CFTR* mRNA expressed from plasmid. Our goal is therefore to look if modulators and gene therapy combined could lead to a benefic impact and therefore compensate for their respective weaknesses and provide a benefic impact on pwCF treatment. CFBE41o- cells (homozygote p.Phe508del) and CFBE KO cells (knocked-out for *CFTR*) were transfected using an optimized CpG free plasmid encoding h*CFTR* (pGM169) complexed with a lipid-based nanoparticle, BSV163/DOPE and/or treated with different concentrations of nesolicaftor (10µM or 30µM) and cell viability assay, RT-qPCR and western blot were performed after this combination. After 24h of treatment on CFBE41o- cells, nesolicaftor (30µM) increased both endogenous and transgene *CFTR* mRNA by 5,8 and 2,6 times, respectively. Additionally, the association of nesolicaftor and gene delivery was not toxic (80% cell viability). After 48h of treatment on CFBE41o- KO, exogenous *CFTR* protein amount was increased by 36%. These in vitro results demonstrated that nesolicaftor can act on endogenous and exogenous *CFTR* mRNA and therefore, on *CFTR* protein amount.

IDENTIFICATION DES PEPTIDES ANTI-MICROBIENS QUI COLOCALISENT AVEC LES LYMPHOCYTES B DANS LE TISSU GINGIVAL AU COURS DES PARODONTITES

Vanessa Dominique Lobognon^a, Patrice Hemon^a, Yuma Delarue^a, Soizic Garaud^a, Jean-Eric Alard^a, Christophe Jamin^a

a-Univ. Brest, Lymphocytes B, AutoImmunité et Immunothérapies (LBAI), UMR12227/INSERM/UBO
vanessa.lobognon@univ-brest.fr

Résumé

Les parodontites sont des affections bucco-dentaires courantes dont la forme sévère représente la sixième maladie la plus répandue, affectant près de 19% de la population adulte mondiale [1,2]. Les parodontites sont caractérisées par une destruction des tissus de soutien des dents (parodonte) dont en particulier le tissu osseux [3]. Les atteintes les plus sévères conduisent, en absence de traitement, à des pertes dentaires [4]. De fortes similitudes avec les maladies auto-immunes sont régulièrement mises en évidence, en particulier avec la polyarthrite rhumatoïde [5]. Les lymphocytes B sont détectés dans les infiltrats inflammatoires des gencives des patients atteints de parodontites et peuvent participer au processus de destruction osseuse [6]. La réponse immunitaire lors des parodontites, fait aussi intervenir des peptides anti-microbiens dont les propriétés regroupent à la fois des effets antibactériens directs et la capacité de moduler l'action de nombreux leucocytes. Des récepteurs des peptides anti-microbiens sont exprimés par certains lymphocytes B, rendant possible une interaction entre ces deux acteurs de la réponse immunitaire. L'objectif de cette étude est d'identifier les peptides anti-microbiens colocalisant avec les lymphocytes B sur coupes de tissu gingival. L'approche retenue est l'utilisation de l'imagerie par cytométrie de masse qui permet d'identifier les peptides anti-microbiens et les populations de lymphocytes B grâce à des marquages à l'aide d'anticorps couplés à des métaux. Cette approche sera réalisée parallèlement sur des tissus gingivaux de patients atteints de parodontite et des tissus gingivaux sains.

Références

- 1- Jain, N., Dutt, U., Radenkov, I., & Jain, S. WHO's global oral health status report 2022: Actions, discussion and implementation. *Oral diseases*, **2023**.
- 2- World Health Organization. Global oral health status report: Towards universal health coverage for oral health by 2030. World Health Organization, **2022**.
<https://www.who.int/publications/i/item/97892400614840> Accessed 18th December 2022.
- 3- PN. Papapanou, M. Sanz, N. Buduneli, T. Dietrich, M. Feres, DH. Fine, TF. Flemmig, R. Garcia, WV. Giannobile, F. Graziani, H. Greenwell, D. Herrera, RT. Kao, M. Kebschull, DF. Kinane, KL. Kirkwood, T. Kocher, KS. Kornman, PS. Kumar, BG. Loos, E. Machtei, H. Meng, A. Mombelli, I. Needleman, S. Offenbacher, GJ. Seymour, R. Teles, MS. Tonetti. *J Periodontol*, **2018**, 89 (S1): S173-S182.
- 4- I. Reynolds, B. Duane. *Evid Based Dent*, **2018**, 19(1):14-5.
- 5- Y. Li, R. Guo, PK. Oduro, T. Sun, H. Chen, Y. Yi, W. Zeng, Q. Wang, L. Leng, L. Yang, J. Zhang. *Front Cell Infect Microbiol*, **2022**, 12:956417.
- 6- M. Zouali. *Autoimmunity*, **2017**, 50(1):61-70.