N° 02 ▸ JUILLET 2014

CEAbio

LES SCIENCES DU VIVANT AU CEA

PAGES 12-15
PANORAMIQUE

PIM : la physique au service de la médecine

En route pour les algocarburants

La nicotine vise le placenta

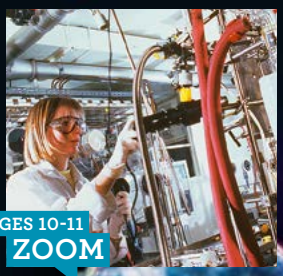
Sus au Chikungunya

Les bienfaits de l'ADN non codant

Un Labex pour la médecine personnalisée

PAGES 3-9
GRAND ANGLE

Biodiversité
Exploration au cœur des génomes



PAGES 10-11
ZOOM

Le marquage isotopique,
un outil pour les études pharmacologiques et toxicologiques

DE LA RECHERCHE À L'INDUSTRIE
cea

La biodiversité, un réservoir de ressources inédites

Alimentaires, pharmaceutiques, énergétiques… La biodiversité recèle des ressources connues et plus encore à découvrir. Au XIXème siècle, le naturaliste Charles Darwin se consacrait à cette fascinante diversité, à la compréhension de son histoire et de sa dynamique. Il discernait alors le principe d'évolution des espèces, alors même que ni la génétique ni le concept de variabilité génétique n'existaient. Aujourd'hui, autres approches, autres moyens, autres objectifs. Le Genoscope, l'un des 2 centres de l'Institut de génomique du CEA, explore la biodiversité au cœur des génomes et des métagénomes. Au-delà de sa mission première de Centre national de séquençage, ses chercheurs participent ainsi au décodage de l'arbre du vivant et des interactions complexes que les espèces entretiennent entre elles et avec leur milieu. Grâce à leur expertise en bioinformatique, aux progrès des techniques de séquençage et à la capacité de stockage et de gestion de données offerte par le Centre de Calcul Recherche et Technologie (CCRT) du CEA, les équipes du Genoscope ont pu étendre les études de la biodiversité des génomes à celles de la vaste palette des réactions chimiques réalisées par le vivant. Le Grand angle de ce numéro de CEAbio vous invite au Genoscope. Il présente l'ensemble de ses activités, qui conduisent à la découverte de molécules, enzymes et voies de synthèse inédites pour une chimie durable, moins polluante et moins gourmande en énergie. Nous vous souhaitons une bonne lecture. ●

"Explorer les génomes et les métagénomes du vivant."

Gilles Bloch,
Directeur des sciences du vivant du CEA

CEAbio, journal de la Direction des sciences du vivant du CEA, paraît 3 fois par an. Des remarques ? Des suggestions ? Écrivez-nous à dsv@cea.fr

En haut : Les filets à plancton de la Goellette Tara plongent dans les eaux de l'Arctique.
© F. Aurat/Tara expéditions

En bas : Découpage de bandes de gel d'électrophorèse contenant de l'ADN de taille définie.
© F. Rhodes/CEA

Couverture : Différentes espèces planctoniques à l'étude dans le projet Tara.
© C. Sardet / Tara Oceans

Les instituts de la Direction des sciences du vivant du CEA

IBEB : Institut de biologie environnementale et biotechnologie.
IBITECS : Institut de biologie et de technologies de Saclay.
IBS : Institut de biologie structurale (CEA/CNRS/Université Joseph Fourier).
IG : Institut de Génomique.
I2BM : Institut d'Imagerie Biomédicale.
IMETI : Institut des maladies émergentes et des thérapies innovantes.
IRCM : Institut de radiobiologie cellulaire et moléculaire.
IRTSV : Institut de recherches en technologies et sciences pour le vivant.

Les chercheurs du Genoscope se lancent à l'assaut de la biodiversité. À la clé, une meilleure connaissance du vivant, la découverte de nouvelles molécules et enzymes à fort potentiel industriel…

Biodiversité
Exploration au cœur des génomes

« *Continuum* » est le maître mot ici. Nous sommes au Genoscope, l'un des deux services de l'Institut de génomique du CEA[1] (CEA-IG) à Évry. Tous ses chercheurs insistent sur la continuité à la fois historique et scientifique entre leurs activités de séquençage pour reconstituer des génomes, étudier leur évolution et identifier leurs gènes, d'une part, et leur caractérisation fonctionnelle, d'autre part. Cette diversité disciplinaire résulte d'une double évolution. Premier grand changement : en 2001, le Genoscope, principalement dédié jusque-là au génome humain, se lance dans l'exploration de la biodiversité dans son ensemble : végétaux, animaux, micro-organismes. Cela comprend les espèces d'intérêt agronomique, en collaboration avec l'Inra, le Cirad ou l'IRD. Au menu : vigne, banane, café, colza, riz africain, truite arc-en-ciel (un génome publié tout récemment, voir p. 11) et bien sûr le blé (voir p. 05). Le Genoscope se consacre toutefois de plus en plus à des espèces peu « travaillées » : plancton (voir encadrés Tara et Oceanomics), algues, micro-organismes… Il n'hésite pas non plus à séquencer l'ADN de communautés vivantes entières présentes dans un sol, une eau ou un environnement particulier. On parle alors de **métagénome***. L'un des premiers projets de ce type, appelé *Cloaca maxima*, concerne ›››

* ***Métagénome***
Ensemble des génomes des populations (bactéries, plancton, microalgues…) d'un milieu donné. Leur analyse consiste à étudier collectivement les gènes, sans les détailler individu par individu.

[1] *L'Institut de Génomique du CEA se compose du Génoscope (Centre national de séquençage) et du Centre National de Génotypage (CNG).*

Le Genoscope en chiffres

- **98** ingénieurs, techniciens, informaticiens, bio-informaticiens, dédiés à la plateforme de séquençage.
- **64** chercheurs, ingénieurs, techniciens.
- **9** post-docs et doctorants.
- **12** étudiants (BTS, Licence, Master).
- Près de **100** publications par an.

>>> les boues activées d'un bassin de la station d'épuration d'Évry… « *Il s'agit de découvrir des microorganismes totalement inconnus dans les laboratoires et potentiellement porteurs de gènes intéressants* » souligne Patrick Wincker, qui dirige la partie génomique du Genoscope. Par exemple, une équipe pilotée par Denis Le Paslier s'est attaquée à la chlordécone (aujourd'hui interdite), un pesticide organochloré très toxique et massivement utilisé contre le charançon du bananier aux Antilles. Sa persistance dans les sols et les eaux pose aujourd'hui de sérieux problèmes. Des échantillons de sol prélevés aux Antilles ont été mis en culture plusieurs années en présence de ce produit. Leur analyse chimique a révélé que certaines communautés microbiennes peuvent dégrader notablement la chlordécone. Le métagénome de ces communautés a alors été séquencé dans le but d'élucider les mécanismes de biodégradation de ce pesticide.

Véronique de Berardinis, responsable de la plateforme de découverte de nouveaux biocatalyseurs, voit un intérêt pratique à ce type de recherche. « *Ces métagénomes représentent un réservoir naturel inexploré de biocatalyseurs pour la chimie de synthèse et l'industrie* », estime-t-elle.

Une terra incognita ?

L'autre grande nouveauté au Genoscope date d'une dizaine d'années : la mise en place d'une forte activité d'exploration fonctionnelle[2], venue s'ajouter à la génomique qu'il continue de pratiquer à grande échelle. Cette nouvelle orientation résulte d'un constat : le déséquilibre croît sans cesse entre le nombre de données qui s'accumulent, en particulier sous forme de gènes, et la détermination de leurs fonctions qui elle, marque le pas. Résultat, des millions de gènes et de protéines recensés sont aujourd'hui « *orphelins de fonction* ». « *Et lorsqu'une fonction est attribuée, c'est souvent* in silico*, par similitude de séquence avec une enzyme « connue », mais sans base expérimentale* » renchérit Véronique de Berardinis. Des chercheurs du Genoscope travaillent donc à « *compléter la connaissance du métabolisme des organismes, qui reste encore une terra incognita* », selon Marcel Salanoubat, directeur de

[2] *Cette activité est prise en charge par l'UMR 8030 Génomique métabolique (CEA, CNRS et Université d'Évry), structure de recherche fondamentale du Génoscope, qui analyse les résultats de l'activité de séquençage.*

Salle des thermocycleurs du Génoscope, où sont amplifiées les séquences d'ADN.
© F. Rhodes/CEA

Manipulation en boîte à gants d'espèces microbiennes anaérobies.
© F. Rhodes/CEA

Séquençage d'un « monstre »

Dix-sept milliards de paires de bases, vingt-et-un chromosomes, plus de 90 000 gènes[3]. Le génome du blé tendre[4] est un « monstre ». L'International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC) s'est lancé en 2005 à l'assaut de son séquençage. Une esquisse du génome complet existe depuis 2012. Il s'agit désormais d'achever cette séquence de référence, une opération que le Genoscope coordonne à l'échelle mondiale. « *Il faut reconstituer le génome correctement réparti sur ses différents chromosomes, donc utilisable par les sélectionneurs*, insiste Patrick Wincker. *Seuls des centres comme le nôtre peuvent le faire, avec leur expertise en bio-informatique* ». ●

[3] *À titre de comparaison, le génome humain comporte 3,2 milliards de paires de bases pour un peu plus de 20 000 gènes.*

[4] *C'est le blé panifiable, qui représente 95 % du blé cultivé.*

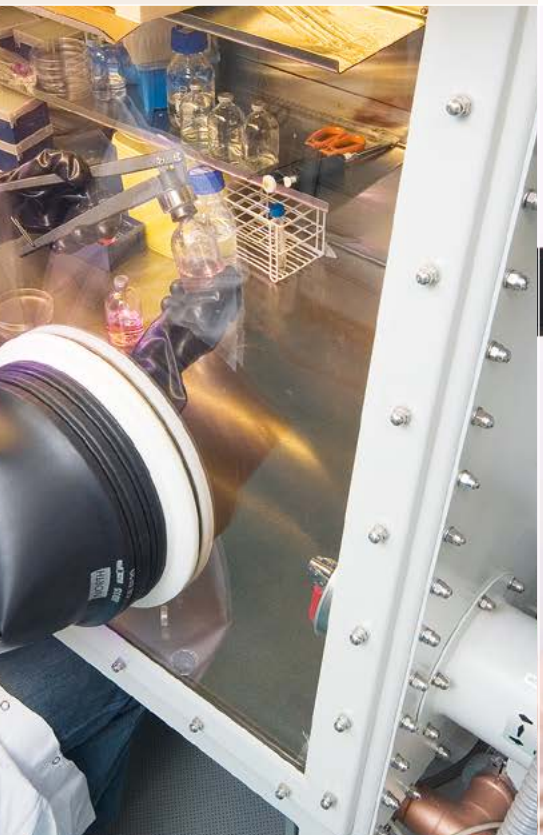
l'unité de recherche du Genoscope. Il en veut pour preuve que même chez une bactérie aussi examinée et exploitée qu'*Escherichia coli*, le micro-organisme de prédilection des biologistes, certaines voies métaboliques restent à découvrir.

Pour compléter la connaissance de la bactérie du sol *Acinetobacter baylyi* (voir l'encadré p. 06), les chercheurs ont par exemple modélisé son métabolisme et construit une collection de mutants disponible à la communauté internationale. Certains aspects du **métabolisme anaérobie*** ont aussi été déterminés à partir du métagénome de *Cloaca maxima*. Autre résultat marquant : toutes les compétences du Genoscope (bio-informatique, biochimie, biologie structurale, criblage enzymatique à haut débit, chimie...) ont été mobilisées pour explorer une famille de protéines dûment recensée dans les bases de données mais de fonction inconnue. Finalement, après avoir découvert quatorze activités catalytiques potentielles, les chercheurs ont regroupé ces protéines sous le doux nom de ß-Kace (enzymes de clivage des cétoacides). Le problème inverse, celui d'activités catalytiques connues mais « orphelines de gènes », se présente également. Le laboratoire a ainsi examiné *Clostridium sticklandii*, une bactérie découverte en 1934 dans la boue de la baie de San Francisco et connue pour savoir à la fois oxyder et réduire les acides aminés. Après analyse de son génome, l'équipe a pu assigner des gènes, et donc des enzymes, à trois réactions orphelines de la voie de fermentation d'un acide aminé, l'ornithine, pourtant décrite depuis plus de 70 ans. Depuis quelques années, le Genoscope a ainsi associé une dizaine de gènes à des activités enzymatiques orphelines.

* ***Métabolisme anérobie***
Métabolisme des organismes vivant sans oxygène.

Des enzymes à tout faire

La fonction des protéines peut également être explorée dans un autre objectif. Cette fois-ci, il s'agit non pas de déterminer la fonction d'une enzyme dans son organisme d'origine, mais ses capacités de bioconversion. En effet, si certaines enzymes sont spécifiques d'un substrat, beaucoup d'entre elles peuvent en accepter en réalité toute une gamme. « *La diversité des réactions qu'elles peuvent cata-* »»



Purification des fragments d'ADN à séquencer.
© F. Rhodes/CEA

Enceintes de culture sous vide de souches microbiennes anaérobies.
© F. Rhodes/CEA

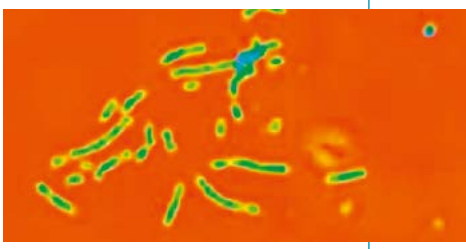
lyser est bien souvent sous-estimée » affirme Véronique de Berardinis. Avec ses collègues, elle se focalise sur les **procaryotes***, adaptés à des biotopes particuliers, et possédant donc *a priori* des enzymes « originales ». Ils ont ainsi constitué une collection de 5000 enzymes couvrant plusieurs familles clés pour la biocatalyse, dont le potentiel a été étudié. Selon les besoins, l'une (ou plusieurs) peut être sélectionnée pour entrer dans un processus biocatalytique, c'est-à-dire être intégrée à un procédé de chimie de synthèse. Parmi ces nouveaux biocatalyseurs, la collection de nitrilases remporte un franc succès auprès des industriels ou des laboratoires académiques.

Faire travailler des enzymes *in vitro* n'est pas toujours aisé, en particulier lorsqu'il s'agit de catalyser des cascades coordonnées de réactions. D'où l'idée d'introduire le(s) gène(s) correspondant(s) dans le génome d'un microorganisme qui réalisera alors en fermenteur la voie métabolique montée de toutes pièces. C'est le but de l'ingénierie métabolique et de la biologie de synthèse. Ainsi, la société Global Bioénergies a imaginé *de novo* une voie de production de l'isobutène (composant du caoutchouc synthétique, du carburant Diesel ou de divers matériaux) à partir de la biomasse. Problème : aucune bactérie ne possédait toutes les enzymes nécessaires. « *Ils se sont tournés vers nous. Nous leurs avons fourni deux collections d'enzymes à explorer qui ont permis d'identifier les deux enzymes manquantes. Ils les ont ensuite fait évoluer pour améliorer leurs performances et les ont introduites dans* E. coli » se souvient Véronique de Berardinis. Rien de tout cela n'aurait été possible sans les compétences en génomique du Genoscope. ●

Automate de culture continue pour adapter des microorganismes à des milieux et des conditions de croissance artificiels (biologie de synthèse).
© C. Dupont/CEA

* ***Procaryote***
Organisme vivant unicellulaire dont la structure est dépourvue de noyau (bactérie, cyanophycées...). Son ADN n'est pas séparé du reste de la cellule.

Acinetobacter baylyi : un modèle alternatif



© Genoscope

« *Nous avons choisi* Acinetobacter baylyi *car c'est une bactérie du sol, strictement aérobie, qui possède un métabolisme lié à l'assimilation des produits de dégradation de végétaux, plus simple que celui d'*E. coli, *qui est à la fois aérobie et anaérobie* » explique Marcel Salanoubat. De plus, elle est capable, toute seule, d'internaliser de l'ADN et de l'intégrer à son propre génome, ce qui facilite grandement des études génétiques à haut-débit.

Pas étonnant donc que le Genoscope ait décidé d'en faire un modèle bactérien alternatif. Il met à la disposition des chercheurs du monde entier son génome intégralement séquencé et annoté, une collection de 2500 mutants (chacun privé d'un gène non essentiel), une collection de gènes clonés et un modèle de son métabolisme. Une seule autre institution au monde, l'université Keio au Japon, propose de telles ressources... pour *E. coli*.

Centre de Calcul de Recherche et de Technologie (CCRT) du CEA, dont la puissance de calcul est supérieure à 300 Teraflops (300 mille milliards d'opérations par seconde).
© Cadam/CEA

ÉQUIPEMENTS

Le séquençage à l'ère industrielle

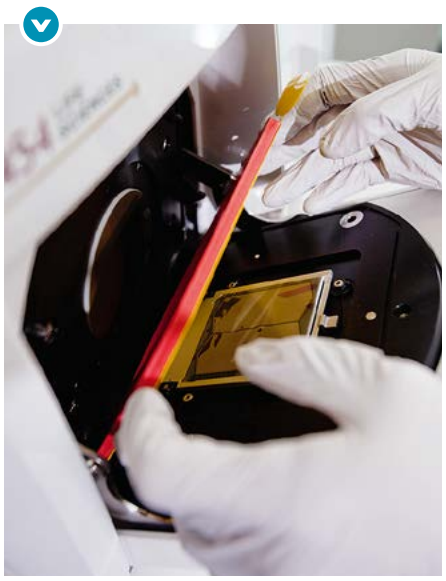
Depuis son origine dans les années 1970, le séquençage des génomes consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides (A, T, G, C) de fragments d'ADN représentant la totalité d'un génome. Vient ensuite une phase informatique de reconstitution du génome entier, en jouant sur les chevauchements de séquences.

La **méthode de Sanger*** s'est imposée dans un premier temps et a rapidement été automatisée. Ses derniers séquenceurs produisent 1 Mb de données par jour. Puis, au milieu des années 2000, le séquençage est passé à l'ère du haut débit. La société Illumina diffuse aujourd'hui la technologie la plus répandue au niveau mondial. Ainsi, les 6 séquenceurs de ce type du Genoscope génèrent chacun 55 Gb par jour. En revanche, cette technologie produit des séquences plus courtes, ce qui complique le traitement bio-informatique ultérieur. La quantité de données explosant, le Genoscope (et l'Institut de Génomique dans son ensemble) est désormais relié au Centre de Calcul Recherche et Technologie du CEA (CCRT) à Bruyères-le-Châtel, qui met à sa disposition capacité de stockage et puissants calculateurs.

« *Les technologies émergentes viendront s'ajouter plutôt que se substituer à ce qui existe, au moins dans un premier temps,* explique Arnaud Lemainque. *Chaque technique s'adapte plus ou moins bien à chaque type de projets. Nos stratégies de séquençage sont élaborées en fonction de l'objectif, du type de génome, de la qualité de l'échantillon, mais également du coût.* »

Il s'agit en effet de pouvoir répondre à toutes les demandes : en plus de ses propres projets de recherche, le Genoscope lance des appels à projets auprès de la communauté académique française, *via* l'infrastructure France Génomique (voir ci-dessous).

Chargement de fragments d'ADN dans un séquenceur.
© C. Dupont/CEA



* ***Méthode de Sanger***
Méthode de séquençage mise au point par le biochimiste britannique Frederick Sanger, qui lui valu une partie du prix Nobel de chimie en 1980.

France Génomique

Soutenue par un Investissement d'Avenir d'un montant total de 60 M€, France Génomique est une infrastructure nationale de service regroupant les principales plateformes de génomique et de bio-informatique en France. Outre le Genoscope et le CNG, elle compte des plateformes « régionales » spécialisées, des centres de bio-informatique et a accès au centre de calcul du CEA. L'idée est de constituer une force de frappe comparable aux grands centres internationaux. France Génomique lance des appels à projets vers les chercheurs publics et privés, en France mais aussi en Europe et à l'international.

1

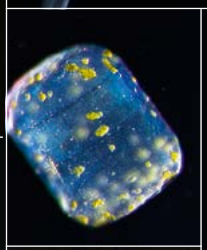
EXPÉDITION

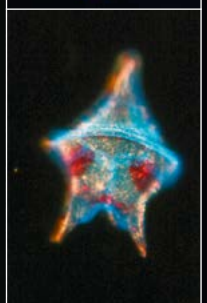
Tara Océans : sous le signe du plancton

« *L'océan représente plusieurs années de travail pour nous* » affirme Patrick Wincker. Durant les expéditions Tara Océans (2009-2012), puis Tara Polar Circle (2013), plusieurs chercheurs du Genoscope ont même navigué à bord de la goélette pour participer aux prélèvements d'eau de mer autour du globe. Objectif de cette circumnavigation : explorer le plancton, ce mélange de virus, de bactéries et d'eucaryotes (larves diverses, crustacés, algues, jusqu'aux méduses). Il s'agit à la fois de décrire la biodiversité marine et de rechercher des activités enzymatiques nouvelles.

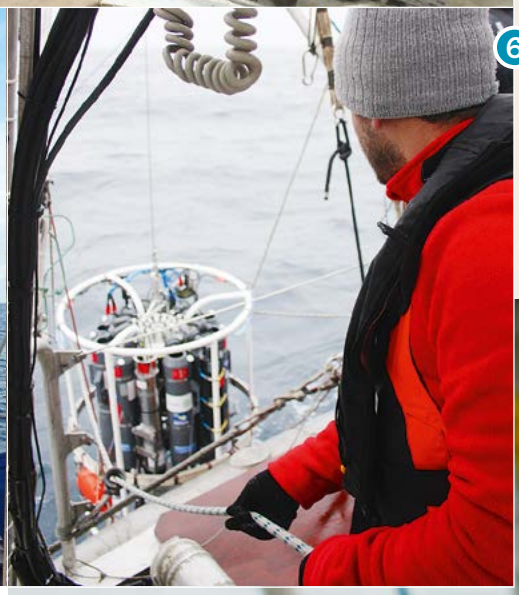
Des dizaines de milliers d'échantillons et de mesures (chimiques, biologiques et physiques) ont été récoltés. Le Genoscope assure le séquençage intégral de l'ADN contenu dans chaque échantillon, ainsi que l'analyse génomique de tout ce qui concerne les eucaryotes. Cet aspect de l'opération est financé en partie par France Génomique, à hauteur de 3 M€ sur trois ans. Le projet Oceanomics (voir p. 09), plus large, finance également les recherches menées en aval du séquençage. ●

2





3



Oceanomics

Le projet OCEANOMICS – wOrld oCEAN biOressources, biotechnologies, and Earth-systeM servICeS – soutient toutes les équipes de recherche françaises participant à l'exploration des données provenant de Tara Oceans. Il est financé à hauteur de 7 M€ par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR), pour une période de 7 ans à partir de 2013. L'objectif est d'explorer morphologiquement et génétiquement tous les échantillons, de constituer une base de données publique et de l'exploiter dans les domaines de la biotechnologie, des ressources naturelles et même du droit. ●

1. Goélette Tara, avec ses 2 filets à plancton à l'arrière.
© C. Dupont/CEA

2. Le plancton est l'ensemble des végétaux et des animaux aquatiques, généralement microscopiques, qui dérivent au gré des courants. Il se compose de microalgues, de microcrustacés, de larves…
© C. Sardet/Tara Oceans

3. Préparation de la Rosette , dispositif qui supporte des capteurs physicochimiques (acidité, températures, salinité…) et des bouteilles de prélèvements d'eau de mer à différentes profondeurs, au large de Mourmansk.
© V. Hilaire/Tara

4. Descente de filets à planctons dans l'océan Pacifique, près de l'archipel des Marquises.
© S. Nicaud/CEA/Tara

5. Filtration d'eau de mer prélevée à différentes profondeurs.
© S. Nicaud/CEA/Tara

6. Remontée de la Rosette après prélèvements dans les eaux du Pacifique.
© Y. Chavance/Tara expéditions/Tara

7. Préparation d'échantillons en mer de Sibérie orientale.
© A. Deniaud/Tara

Le marquage isotopique,

un outil pour les études pharmacologiques et toxicologiques

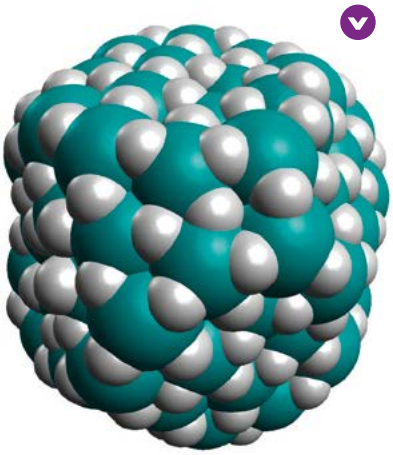
Une nouvelle technique de marquage isotopique, qui permet de tracer une molécule bioactive dans un organisme, a été mise au point par une équipe du CEA et du CNRS. Avantages : plus rapide, moins contraignante, plus spécifique.

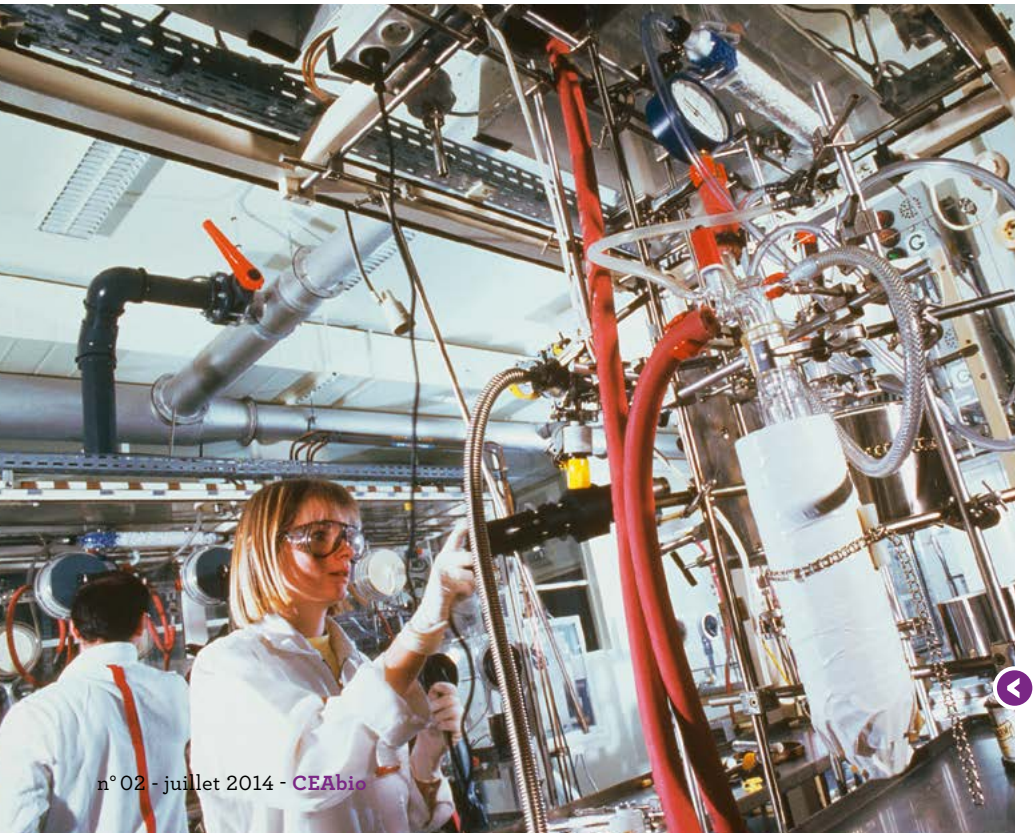
Médicaments, pesticides, conservateurs... Comment étudier le mode d'action et le devenir de ces molécules dites bioactives dans les organismes vivants ? Le marquage isotopique est une solution des plus efficaces. Son principe ? Remplacer un ou plusieurs atomes de la molécule par l'un de ces isotopes (voir encadré). Comme par exemple l'hydrogène, qui peut être échangé contre un atome de deutérium ou de tritium. « *Le deutérium est un isotope lourd et stable de l'hydrogène,* explique Gregory Pieters, du CEA. *La molécule dans laquelle il aura été introduit verra sa masse modifiée et pourra être quantifiée dans des fluides ou des tissus biologiques par spectrométrie de masse.* » Le tritium, isotope radioactif de l'hydrogène, émet quant à lui un rayonnement qu'un appareil appelé beta-imageur est capable, sur des échantillons de tissus biologiques, de détecter et de transformer en une image compréhensible par les chercheurs. De plus, le tritium étant très rare à l'état naturel, aucun bruit de fond issu de l'environnement ne vient donc altérer les mesures : le seuil de détection d'une molécule tritiée est ainsi très faible dans un organe ou dans le sang.

Avantage majeur du marquage isotopique : les molécules « tatouées » ont exactement les mêmes propriétés chimiques que les originales. Seule leur capacité à être détectées est renforcée. « *Grâce au marquage isotopique, nous pouvons suivre une molécule in vivo, comprendre son fonctionnement, voir où elle est stockée dans l'organisme, comment elle est dégradée...* »

Pour marquer une molécule, deux approches sont possibles. La première, chronophage, consiste à construire la molécule à partir de briques de base contenant déjà l'isotope. Dans la seconde, il s'agit de substituer

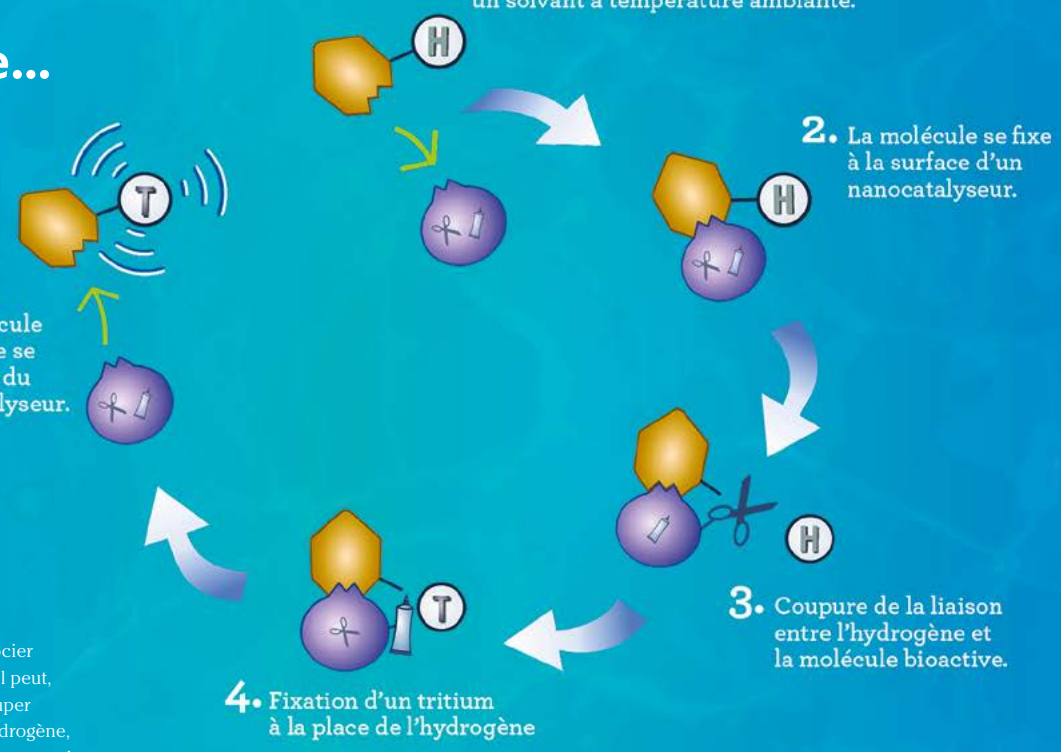
Modélisation du nanocatalyseur. En blanc, des hydrures de deutérium, prêt à substituer un hydrogène sur la molécule bioactive.
© LMT-IBITECS/CEA





Mise en place d'une opération de marquage isotopique au tritium dans une boite à gants.
© CEA/Joly

Un nanocatalyseur pour marquer en douceur une molécule...



Molécule bioactive

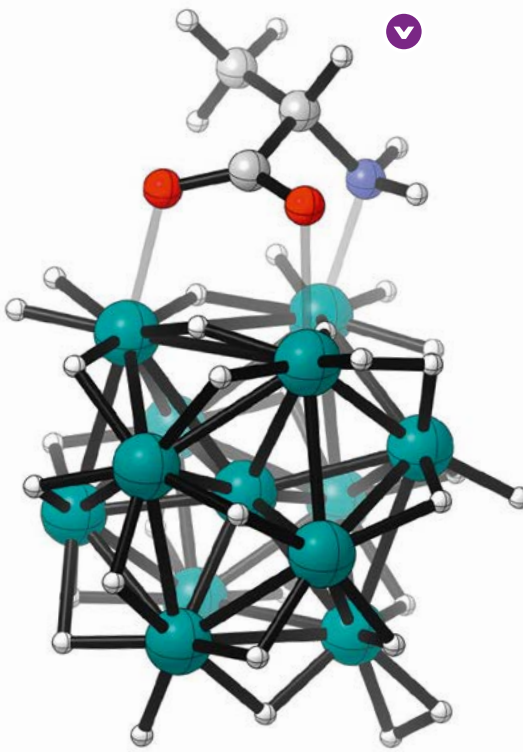
Nanocatalyseur
Dispose d'un site lui permettant de s'associer spécifiquement à la molécule bioactive. Il peut, à température et pression ambiantes, couper une liaison entre cette molécule et un hydrogène, puis fixer sur cette liaison disponible un isotope de l'hydrogène (deutérium ou tritium).

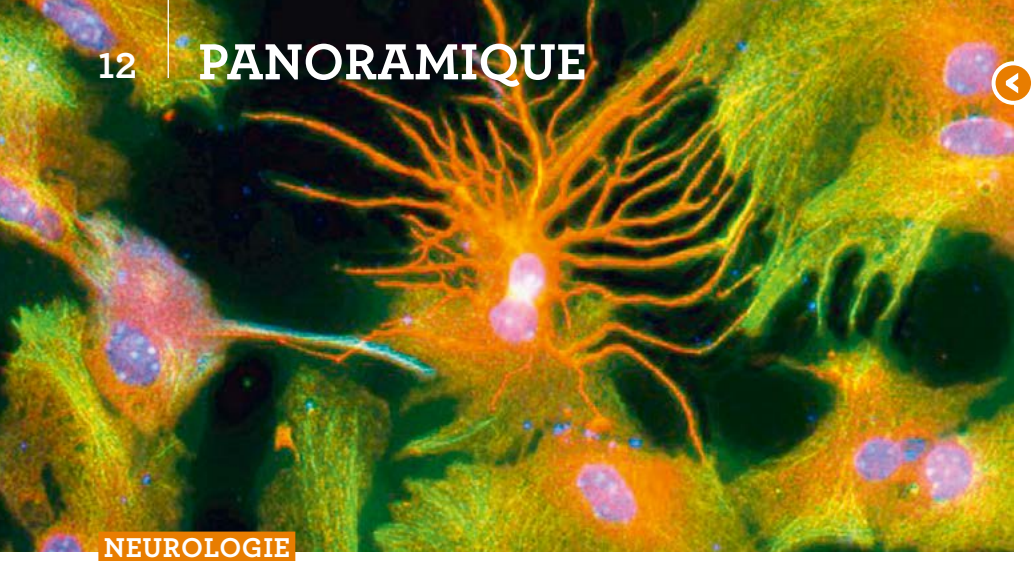
Qu'est-ce qu'un isotope ?

Il s'agit d'atomes d'une même espèce chimique mais de masses différentes. Les atomes sont en effet composés d'un noyau entouré d'un nuage d'électrons. Dans le noyau se côtoient protons et neutrons. Des atomes sont dits isotopes s'ils ont le même nombre de protons mais un nombre de neutrons différent. Ainsi le noyau de l'hydrogène possède un proton, celui du deutérium un proton et un neutron, celui du tritium un proton et deux neutrons. Il en va de même pour les atomes de carbone 12, 13 et 14, ou le fluor 19 et le fluor 18. Certains de ces isotopes sont stables (deutérium, carbone 13...), d'autres sont radioactifs (tritium, carbone 14, fluor 18...). De très nombreuses recherches en chimie, biologie, physique, cosmologie, se fondent sur les rapports entre tous ces isotopes car ils peuvent révéler l'histoire de l'élément chimique en question et celle de son environnement.

directement un ou plusieurs atomes par leurs isotopes *via* une réaction de catalyse. C'est cette seconde voie qu'ont récemment emprunté des chercheurs du CEA et du CNRS pour mettre au point une méthode de marquage (voir schéma) dans des conditions dite de « chimie douce », c'est-à-dire à température et pression ambiantes. En effet, pour être mise en œuvre, cette approche nécessitait jusqu'alors de hautes températures, ou l'utilisation d'acide, avec un risque : la dégradation de la molécule à marquer et la perte de son activité. « *Travailler à température et pression ambiantes permet justement d'éviter de l'abimer et de faciliter l'obtention d'une molécule pure rapidement,* révèle Grégory Pieters, qui a participé à ces recherches. *Notre méthode requiert des nanocatalyseurs à base de ruthénium. Elle intéresse certains industriels car elle pourrait permettre de marquer des molécules de manière plus routinière* ». L'autre avantage de cette méthode "douce" de marquage s'estime en durée. En effet, traditionnellement, la mise au point d'un marquage isotopique peut prendre des mois, selon la complexité de la molécule. Les chercheurs français, eux, sont parvenus à marquer neuf molécules d'intérêt structurellement différentes (antidépresseur, drogue stimulante, vasodilatateur...) en quelques semaines ! ●

Représentation de la liaison nanocatalyseur (boules bleues)/ molécule bioactive sur un site spécifique.
©CNRS/CEA





Neurone (en orange) entouré d'astrocytes (en vert orangé). En bleu, le noyau de ces cellules.
© Inserm/L. Simonneau

NEUROLOGIE

Quand les astrocytes s'interposent

Longtemps ignoré, le rôle fonctionnel des astrocytes, **cellules gliales*** du cerveau, se révèle de plus en plus important au fil des découvertes. Une équipe coordonnée par le Collège de France et impliquant des chercheurs du CEA-I2BM, à MIRCen[1], s'est ainsi intéressée à la connexine 30, une protéine astrocytaire abondante, formant des canaux entre les cellules. Elle a démontré que cette molécule contrôle aussi l'activité excitatrice cérébrale et la mémoire.

En l'absence de connexine 30, les astrocytes changent en effet de forme et envoient des « tentacules », prolongements qui s'insèrent dans les **synapses***, captant le glutamate, initialement destiné aux neurones. Cela fait de cette protéine une cible thérapeutique potentielle pour augmenter la mémoire ou atténuer les crises d'épilepsie. ●

In Nature Neurosciences, 2014.

* ***Cellules gliales***
Cellules formant l'environnement des neurones, leur apportant soutien et protection, ainsi que des nutriments.

Synapses
Zone de contact entre deux neurones, où transitent les neurotransmetteurs, qui véhiculent le signal nerveux.

[1] *Plateforme d'imagerie et d'études précliniques du CEA-I2BM.*

CAMPUS PARIS SACLAY

Projet PIM : la physique au service de la médecine

Le projet PIM (Physique et Ingénierie pour la Médecine) a été sélectionné lors de l'appel d'offre recherche de l'**IDEX*** Paris-Saclay 2014. Son objectif : coordonner les activités de physique pour des applications biomédicales menées sur le campus de Paris-Saclay. Il regroupe des laboratoires spécialisés en physique, l'IR4M[1] (CNRS/Université Paris-Sud), l'Institut Mines-Telecom et trois laboratoires du CEA (NeuroSpin[2], le LIST[3] et le SHFJ[4]), ainsi que des partenaires médicaux : l'Institut Gustave Roussy, l'Institut Curie, les unités « Imagerie et psychiatrie » et « Épilepsies de l'enfant et plasticité cérébrale » (Inserm/Université Paris Descartes/CEA). PIM se focalisera sur l'imagerie TEP/IRM pour l'étude du système nerveux central et l'oncologie. Cette bimodalité permettra de détecter et quantifier des dysfonctionnements moléculaires, d'acquérir des informations fonctionnelles et des images anatomiques en haute résolution. ●

* ***IDEX***
Initiative d'excellence. Les IDEX sont des projets nationaux destinés à faire émerger des pôles d'excellence d'enseignement supérieur et de recherche scientifique, financés par les investissements d'avenir.

[1] *Imagerie par résonance magnétique médicale et multimodalités.*
[2] *Centre de recherche et d'imagerie cérébrale en champs intenses (IRM) du CEA-I2BM.*
[3] *Laboratoire d'intégration des systèmes et des technologies.*
[4] *Service Hospitalier Fréderic Joliot du CEA-I2BM.*

TOXICOLOGIE

Halte à la ricine et à la toxine de Shiga

Quoi de commun entre la toxine de Shiga, produite par certaines souches pathogènes d'*E. coli*, et la ricine, toxine végétale potentiellement utilisable comme arme biologique ? Outre leur dangerosité, toutes deux pénètrent dans la cellule par la même voie, dite du transport rétrograde.
Deux équipes du CEA-IBITECS viennent d'améliorer un antidote, le Retro-2, qu'elles avaient découvert en 2010 dans le cadre du programme interministériel de R&D contre les risques NRBCe[1].
Retro-2 bloque le transport rétrograde et s'est montré efficace contre les deux toxines, tant *in vitro* qu'*in vivo* chez le rongeur. Après optimisation, la molécule de nouvelle génération, appelée (S)-Retro-2.1, est mille fois plus efficace *in vitro* que son « ancêtre » contre ses deux cibles initiales !
Elle pourrait agir aussi contre d'autres pathogènes empruntant cette voie de transport : certains virus (polyomavirus, Ebola) et parasites (Leishmania).
L'équipe recherche actuellement un partenaire industriel pour poursuivre le développement de l'antidote. ●

In ACS Medicinal Chemistry Letters, 2014.

[1] *Lancé par le Secrétariat Général à la Défense et à la Sécurité Nationale (SGDSN), ce programme est conduit par le CEA sous le contrôle d'une cellule exécutive CEA/DGA.*

Fleurs de ricin commun.
© GFDL

BIOÉNERGIE

En route pour les algocarburants…

La production des générations actuelles de biocarburants pose un problème de compétition pour l'occupation des sols cultivables et l'exploitation de matières premières comestibles. D'où l'idée de faire produire des biocarburants, dits de « troisième génération », par des microalgues. Fermentalg, société de biotechnologie spécialisée dans la production de molécules d'intérêt par des microalgues, et une équipe du CEA-IRTSV, viennent ainsi de faire un pas vers la production de biodiesel.

Cultures de microalgues en photobioréacteur.
© G. Senechal/CEA

Dans le cadre d'un programme commun d'ingénierie métabolique, les partenaires ont en effet réussi à modifier le métabolisme d'une microalgue marine pour augmenter son accumulation de lipides d'intérêt énergétique. Cet organisme est désormais capable de produire deux fois plus d'huile que la souche originale.

Fermentalg et le CEA ont déposé conjointement une demande d'enregistrement de brevet. Avec un portefeuille total de 20 familles de brevets, la société conforte ainsi sa position de leader européen de la production de microalgues en **mixotrophie***.

sur www-dsv.cea.fr/presse

Mixotrophie
Capacité d'un organisme à se nourrir à la fois sur le modèle des plantes – « autotrophie » – et des animaux – « hétérotrophie ».

MÉCANISME MOLÉCULAIRE

Tabac et grossesse : la nicotine vise le placenta

Les effets néfastes du tabac pendant la grossesse – retard de croissance utérin, risque accru de prématurité – sont bien connus. Mais quel est le mécanisme d'action de la nicotine ? Pour le savoir, une équipe du CEA-IRTSV a soumis des femelles gestantes de rongeur à des doses de nicotine représentatives de celles consommées par les fumeuses au cours de la grossesse.

Les résultats montrent l'inhibition de la migration des **trophoblastes*** dans l'utérus, aspect fondamental de l'établissement de la circulation fœto-maternelle. De plus, le taux d'EG-VGF, facteur **angiogénique*** placentaire, a diminué à la fois dans le placenta et dans la circulation générale. Des expériences sur des cultures de trophoblaste *in vitro* ont confirmé ces résultats.

La nicotine causerait donc une baisse d'oxygénation et de vascularisation dans le placenta. Une étude clinique est actuellement en cours au CHU de Grenoble afin de pouvoir confirmer ces résultats.

In American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism, 2014

Trophoblastes
Cellules placentaires constituant l'unité fonctionnelle du placenta dans l'utérus.

Angiogenèse
Processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins.

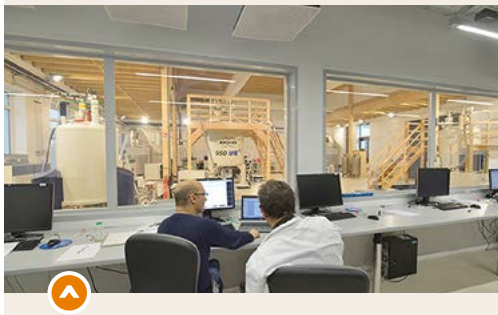
© Fotolia

Brèves de science

Protéines désordonnées : une « première » technique

De très nombreuses protéines, dites désordonnées, échappaient jusqu'ici aux efforts de caractérisation des chercheurs. Combinant RMN et diffusion de rayons X, une équipe de l'IBS s'est attaquée à la protéine tau, impliquée dans la maladie d'Alzheimer. Elle en a déterminé toutes les conformations possibles, y compris les plus fugaces, chacune influençant la fonction de la protéine.

In PNAS, mars 2014



Salle de contrôle de la plateforme RMN de l'Institut de Biologie Structurale.
© CEA / www.denis-morel.com

Le génome de la truite dévoilé

Un consortium français impliquant entre autres le CEA (Genoscope) vient de publier le génome de la truite arc-en-ciel, avec à la clé une surprise pour les généticiens. Le génome d'un ancêtre des salmonidés a en effet subi une duplication complète il y a 100 millions d'années, or le séquençage révèle une évolution bien plus lente que prévu après un tel événement.

In Nature, avril 2014.

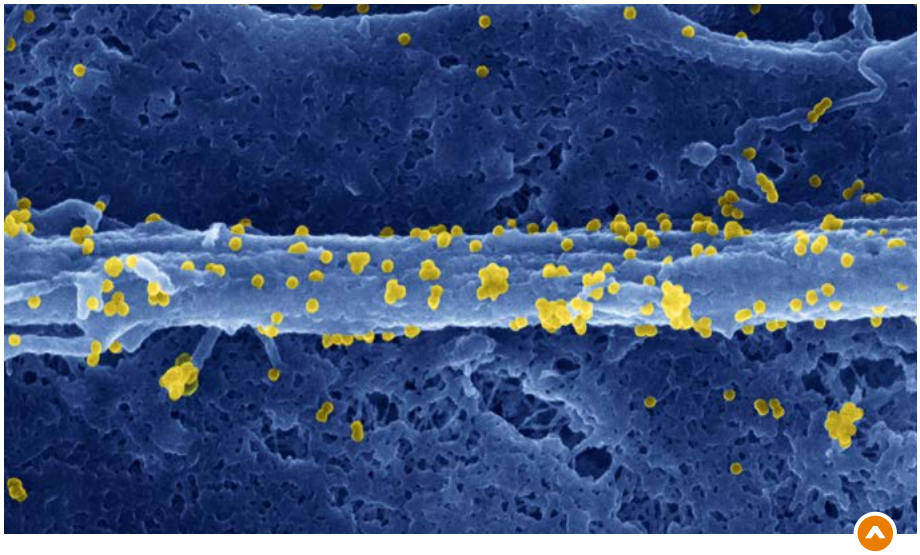
Virus : un nouveau géant venu du froid

Des chercheurs du CNRS/Aix-Marseille Université, du CEA-IRTSV, du CEA-IG et de l'Académie des sciences de Russie ont découvert un nouveau type de virus géant, enfoui depuis plus de 30000 ans dans le sol gelé de l'extrême Nord-Est. Baptisé « Pithovirus », inoffensif pour l'Homme et les animaux, il porte à trois le nombre de familles distinctes de virus géants.

In PNAS, mars 2014
sur www-dsv.cea.fr/presse

PROPHYLAXIE

Sus au Chikungunya



Virus du Chikungunya (en jaune) observé en microscopie électronique à balayage à la surface d'une cellule infectée (en bleu).
© Inserm/T. Couderc/M.-C. Prévost/M. Lecuit

Le virus du Chikungunya, sévissant en Inde, en Afrique et en Asie du Sud-Est, aborde le continent américain *via* les Caraïbes depuis quelques mois. Transmis par les moustiques du genre *Aedes*, il provoque chez l'homme de fortes fièvres, des céphalées, des éruptions cutanées et surtout des douleurs musculaires et articulaires, ces dernières pouvant durer des mois, voire des années.

Un consortium européen, intégrant le CEA-IMETI, a préparé plusieurs candidats vaccins, basés sur des souches virales de Chikungunya génétiquement modifiées ou conçu à partir d'ADN synthétique codant pour des protéines virales. Isolés ou en combinaison, ils se sont montrés efficaces *in vivo* sur un modèle rongeur inoculé avec une souche sauvage du virus.

Les deux vaccins les plus prometteurs seront bientôt testés chez un modèle primate, dont le système immunitaire est proche de l'Homme. Si les résultats sont concluants, les tests cliniques pourraient être financés. ●

In Journal of Virology, 2014.

INVESTISSEMENT D'AVENIR

Un Labex pour la médecine personnalisée

Nouveaux projets, nouvelle équipe. La deuxième version du **LabEx*** GENMED (laboratoire d'excellence en GEnomique MEDicale) a été validée par le jury international en charge de son évaluation. Coordonné par Jean-François Deleuze, directeur du Centre National de Génotypage du CEA-IG et directeur scientifique de la Fondation Jean Dausset-CEPH, GENMED II réunit ces 2 entités et l'Institut de recherche sur les maladies cardiovasculaires du métabolisme et de la nutrition (Inserm/UPMC). Il sera financé à hauteur de 10,8 M€ sur 8 ans.

Dédié à la médecine personnalisée et la médecine translationnelle, GENMED II appliquera l'analyse génomique à haut débit à des pathologies telles que la maladie d'Alzheimer, l'autisme, la cardiomyopathie, les maladies rares ou le cancer. Objectif : identifier des cibles et des biomarqueurs de ces maladies, mettre en place des bases de données et des outils bio-informatiques. ●

* ***LabEx***
Laboratoire d'Excellence. Les LabEX ont été créés dans le cadre du programme des investissements d'avenir, pour soutenir la recherche d'équipes sur une thématique donnée et leur donner une visibilité internationale.

Partenariats industriels

MedDay
La start-up issue de l'AP-HP et le CEA-IBITECS mettent en place une plateforme d'identification de nouvelles cibles thérapeutiques à partir d'analyses métabolomiques d'échantillons de liquide céphalorachidien humain. Une première collaboration a prouvé l'efficacité de cette méthode pour développer des traitements, en particulier contre les formes progressives de sclérose en plaque.

DBV-Technologies
La société, créatrice du patch cutanée Viaskin® contre les allergies alimentaires, signe un accord de collaboration avec le Centre national de génotypage du CEA-IG. Objectif : comprendre les mécanismes épigénétiques de ce traitement de désensibilisation aux allergies les plus sévères, telle que celle à l'arachide.

Astrazeneca
La compagnie pharmaceutique et le CEA prolongent leur collaboration de recherche sur les premières perturbations cellulaires liées aux stades précoces de la maladie d'Alzheimer. Une étude clinique sur 40 sujets est menée à NeuroSpin, centre d'imagerie du CEA-I2BM, s'appuyant sur des examens en IRM à très hauts champs (7T), en spectroscopie et en imagerie TEP.

Total Energies Nouvelles
Le groupe s'engage avec le CEA-IRTSV dans un projet de recherche sur l'optimisation de la culture de microalgues photosynthétiques et de leur capacité à produire des molécules d'intérêt. Il s'agit de lever des verrous technologiques pour leur exploitation industrielle afin, à terme, de compléter l'offre pour les marchés de l'énergie et de la chimie.

PALUDISME

Réveiller pour mieux tuer

Le parasite responsable du paludisme peut demeurer sous forme dormante, ou hypnozoïte, dans le foie d'une personne infectée, avant de se réveiller et provoquer une infection sanguine. Problème : les hypnozoïtes sont insensibles aux traitements efficaces sur le parasite en activité.

En testant de nouvelles molécules sur des cultures d'hypnozoïtes, cultures qui constituent en elles-mêmes un exploit, des chercheurs de l'AP-HP, du BPRC[1], du CEA-IMETI et du CNRS en ont découvert une capable de les réveiller! D'où l'idée d'associer ce composé à un des traitements ayant fait ses preuves sur la forme active du parasite.

In Nature Medecine, février 2014.
sur www-dsv.cea.fr/presse

[1] *Biomedical Primate Research Center, Pays-Bas.*

Moustique anophèle vecteur du Plasmodium, parasite responsable du paludisme.
© P. Verdy/US Department of Agriculture

INFECTION VIRALE

Un booster contre les virus

La MMP-12 est une enzyme produite par les **macrophages*** en situation inflammatoire. Une équipe du CEA-IBITECS a découvert son double jeu lors d'une infection virale : dans la cellule, elle déclenche la sécrétion de l'interféron-alpha qui participe à la défense de l'organisme ; à l'extérieur, elle contrôle le niveau de ce même interféron dont l'excès peut être toxique. Cette équipe a développé un inhibiteur de la MMP-12 qui bloque cette deuxième action, améliorant ainsi fortement la réponse de modèles rongeurs à une infection virale. Des essais précliniques sont programmés avec ces inhibiteurs brevetés, qui pourraient constituer une nouvelle génération d'antivirus.

In Nature, avril 2014
sur www-dsv.cea.fr/presse

* ***Macrophages***
Cellules du système immunitaire, appelées également globules blancs.

MALADIES DU SANG

Les bienfaits de l'ADN non codant...

Longtemps considérées comme de l'ADN « poubelle », les régions non codantes de l'ADN interviennent dans la régulation des gènes. Leurs variations peuvent même entrainer une diminution de la sévérité de certaines maladies. Des chercheurs du CEA-IRCM, avec des équipes anglaise et néerlandaise, ont montré comment des variants d'une séquence non codante d'ADN atténuent les symptômes de la bêta thalassémie et la drépanocytose, troubles héréditaires se traduisant par une altération de l'hémoglobine. En situation normale, cette séquence active l'expression d'un facteur de transcription régulant l'hématopoïèse (production des cellules sanguines). Chez les patients atteints de ces pathologies et porteurs de variants de cette séquence, cette activation est diminuée. Cela entraîne une réactivation de formes fœtales de l'hémoglobine saine, qui se substituent à l'hémoglobine non fonctionnelle de ces malades.

In The Journal of Clinical Investigation, mars 2014.
sur www-dsv.cea.fr/presse

Globules rouges caractéristiques d'une drépanocytose.
© Inserm/C. Féo

Cultures d'*Arabidopsis Thaliana* en conditions contrôlées pour l'étude de l'absorption des métaux lourds par les plantes.
P. Dumas/CEA

BIOREMÉDIATION

Demeterres, un programme pour décontaminer les sols

Né d'un constat post-Fukushima, le programme Demeterres, coordonné par la Direction des sciences du vivant du CEA, vient d'être lancé. La gestion de l'accident japonais a en effet révélé certaines lacunes des méthodes actuelles de réhabilitation des sols et effluents contaminés : elles ne permettent pas de restaurer durablement l'usage, notamment agricole, des sols, et les volumes de déchets secondaires submergent les filières de traitement.
Demeterres a donc pour but de développer des technologies sélectives de radionucléides (principalement ^{137}Césium et ^{90}Strontium), non intrusives et optimisées en matière de déchets secondaires. Elles feront appel aux biotechnologies (bio-remédiation et phyto-extraction) comme à des méthodes physico-chimiques dites éco-compatibles.
Ce projet, de 19 M€ sur 5 ans, bénéficie d'une aide de l'État de 5,2 M€ gérée par l'Agence Nationale de la Recherche au titre des Investissements d'avenir. Il s'appuie sur l'expertise du CEA, notamment ses équipes du CEA-IBEB (Cadarache) et de sa Direction de l'Énergie Nucléaire, de l'IRSN (Cadarache) ainsi que de l'INRA et du CIRAD à Montpellier.
Avec ses partenaires AREVA et VEOLIA, Demeterres vise la mise au point de technologies industrialisables d'ici 5 ans. Autres développements : un guide d'aide à la décision en situation post-accidentelle et une plateforme d'expertise mobilisable par la puissance publique en cas d'accident. Voire une transposition vers la réhabilitation des sites pollués chimiquement.

Arrêt sur image

Drôle de forme pour un prédateur… Ce virus bactériophage ne s'attaque qu'à une bactérie qui fait des ravages notamment dans les champs de tomates. La combinaison de données cristallographiques et de cryo-microscopie électronique (image de fond en noir et blanc) ont permis de révéler sa structure 3D (image colorisée), en particulier ses protéines de surface grâce auxquelles il s'accroche à des grains de poussières pour atteindre sa proie *via* les airs… pour le plus grand bien des tomates !

© Guy Schoehn/IBS

ABONNEMENT GRATUIT

- Sur **www-dsv.cea.fr/ceabio**
- Par courrier, en précisant vos nom, prénom, profession et adresse à :

CEAbio-abonnements
CEA. DSV Communication
18 route du Panorama - BP6
93265 Fontenay-aux-Roses Cedex

Conformément à la loi « informatique et libertés » du 6 janvier 1978, les abonnés ont un droit d'accès, de rectification et de suppression de leurs données. Vous pouvez en faire la demande à l'adresse ci-dessus ou sur dsv@cea.fr

CEAbio ❷ **n°02 - juillet 2014** **Éditeur** CEA Fontenay-aux-Roses - 18, route du Panorama, BP 6, 92265 Fontenay-aux-Roses Cedex / **Directeur de la publication** Gilles Bloch / **Rédactrice en chef** Claire Abou / **Ont participé à ce numéro** Stéphanie Delage, Fabrice Demarthon, Florence Hervatin, Florence Mousson, Patrick Philipon, Christophe Perrin, Capucine Romefort / **Diffusion** Janet Dias / **Conception graphique** Efil communication (www.efil.fr) / **N° ISSN 0753-3454** / **Impression Gilbert Clarey** (Chambray-lès-Tours), imprimeur labellisé Imprim'vert (charte pour la réduction de l'impact environnemental, la traçabilité et le traitement des déchets) Papier certifié PEFC / 10-31-1073 (garantie d'une gestion durable des ressources forestières) / **dsv@cea.fr**

PEFC 10-31-1073 / Certifié PEFC / pefc-france.org