

A la Une

La danse de l'eau

Contact : Martin Weik

Une équipe internationale impliquant l'IBS vient de mettre en évidence le rôle de l'eau sur l'activité des protéines à l'échelle moléculaire. Les chercheurs ont découvert l'implication du mouvement des molécules d'eau à la surface des protéines afin de les rendre dynamiques et donc fonctionnelles.

Des études préalables avaient déjà permis de découvrir l'importance de l'eau dans le bon fonctionnement biologique des protéines. Les chercheurs de l'IBS, en collaboration avec l'Institut Laue Langevin, ont récemment observé le mouvement des molécules d'eau à la surface des protéines et l'ont corrélé avec la dynamique des protéines, essentielle pour l'activité biologique de celles-ci. Les chercheurs ont constaté qu'à une température inférieure à -30°C , les molécules d'eau possèdent un mouvement de rotation sur elles-mêmes. En dessous de cette température, les protéines ne sont pas actives. Lorsque la température est supérieure à -30°C , qui correspond à un début d'activité des protéines, les molécules d'eau tournent toujours sur elles-mêmes mais commencent à exercer une diffusion translationnelle. C'est donc la capacité de l'eau à « danser » à la surface des protéines qui les rend suffisamment dynamiques pour être fonctionnelles.

Pour mener à bien cette étude, les chercheurs ont utilisé la technologie de diffusion de neutrons combinée à des simulations de dynamique moléculaire. Afin de masquer le signal des protéines et ne garder que celui des molécules d'eau à leur surface, les chercheurs ont eu recours à la production de protéines deutérées, dans lesquelles les atomes d'hydrogène sont remplacés par des atomes de son isotope le deutérium.

Ces résultats permettent de mieux comprendre les conditions nécessaires à l'activité biologique des protéines. Des applications peuvent être envisagées, par exemple, pour contrôler la stabilité de protéines thérapeutiques à l'état solide, tel que l'insuline qui est utilisée comme traitement du diabète.

[Ce résultat a fait l'objet d'un communiqué de presse](#)

[Lien vers l'abstract de la publication dans Nature Communications](#)

Microcéphalies : plongeon dans les plis et replis du cerveau

Contacts : David Germanaud, Lucie Hertz-Pannier

Les personnes atteintes de microcéphalie ont un cerveau de trop petite taille. Les chercheurs du CEA-I2BM ont développé une analyse mathématique d'images IRM permettant de discriminer les variations de complexité de leur plissement cortical. Un pas méthodologique vers une démarche diagnostique plus efficace et une meilleure compréhension du développement cérébral.

Dépliée, la surface du cortex humain atteindrait plus de 2 m². Dans la boîte crânienne, le cortex est plissé jusqu'à former un relief complexe dont la géométrie varie d'un individu à l'autre. Les microcéphalies¹ sont fréquemment associées à des malformations cérébrales. Mais dans certains cas, le cerveau présente une architecture d'aspect normal malgré la forte réduction de volume. Les chercheurs du CEA-I2BM, en collaboration avec le CNRS de Marseille et plusieurs centres hospitalo-universitaires², se sont intéressés à ce dernier type de microcéphalies. Leur objectif est de mieux les caractériser. Ils ont ainsi mis au point une méthode d'analyse mathématique de la courbure corticale similaire aux méthodes d'analyse des oscillations d'un signal sonore : l'analyse spectrale. Elle fait appel à la neuroimagerie assistée par ordinateur et permet d'appréhender quantitativement la complexité du plissement, une donnée sinon très subjective, en révélant l'intrication des plis primaires, secondaires et tertiaires du cortex. Les chercheurs ont ensuite modélisé l'effet général de la taille du cerveau sur la complexité du plissement pour explorer au mieux des cerveaux aussi petits.

Cette méthode a été testée chez 3 groupes d'adolescents et de jeunes adultes présentant une microcéphalie liée à trois causes différentes, à savoir une exposition prénatale à l'alcool, la mutation du gène ASPM entraînant une microcéphalie autosomique récessive, ou la mutation du gène PQB1 responsable d'une microcéphalie syndromique liée au chromosome X. Il apparaît que ces microcéphalies présentent des degrés différents de simplification du plissement cortical. Pour celles associées à une alcoolisation fœtale, le niveau de simplification est celui attendu pour le volume cérébral. En revanche, les microcéphalies liées à des mutations du gène ASPM affichent une simplification du plissement cortical plus marquée qu'attendu et, à l'inverse, celles liées aux mutations du gène PQB1 montrent une simplification moins marquée.

L'analyse spectrale des images du cortex en IRM a donc démontré qu'il existe des variations de la complexité du plissement au-delà de celle induite mécaniquement par la variation de volume du cerveau et que ces variations subtiles pourraient être spécifiques de certaines causes de microcéphalie. Les chercheurs mettent donc en évidence ce que l'œil seul ne distingue pas. Ils travaillent actuellement à l'application de cet outil à l'analyse du développement cérébral des fœtus et des bébés prématurés afin de mieux caractériser les premières phases du développement cortical et d'obtenir de nouveaux marqueurs précoces caractéristiques d'une bonne ou d'une mauvaise croissance cérébrale.

[Lien vers l'abstract dans Neuroimage](#)

¹ On parle de microcéphalie quand le périmètre crânien est inférieur d'au moins 3 écarts-types, ou déviations standards, par rapport à la mesure normale établie en fonction de l'âge et du sexe.

² 2. Hôpital Robert Debré à Paris, Hôpital Femme Mère Enfant de Lyon, CHU de la Réunion.

Une catalyse biomimétique et recyclable

Contacts : Eric Doris, Edmont Gravel

Une équipe du CEA-IBITECS a mis au point un système de catalyse³ mimant l'action d'une enzyme présente chez les bactéries et certains mammifères. Ce procédé est réalisé dans l'eau, sans oxydant autre que l'air ambiant, et se régénère lui-même. Une catalyse propre et durable.

Comment optimiser les procédés chimiques industriels polluants et coûteux ? Dans le domaine de la catalyse, les scientifiques cherchent à obtenir des réactions chimiques à faible coût énergétique (à température ambiante, pression atmosphérique, etc.) et à générer aussi peu de déchets que possible. Pour y arriver, une piste consiste à copier la nature, qui peut être très inventive pour réaliser des réactions d'oxydation efficaces. Ces dernières sont à l'œuvre dans une enzyme très commune, l'amine oxydase, présente dans de nombreux organismes allant des bactéries aux mammifères en passant par les levures.

« Cette enzyme utilise un cofacteur et un centre métallique, explique Eric Doris, chercheur au CEA-IBITECS. Le premier est là pour réaliser la réaction d'oxydation et le second pour régénérer le premier. Ainsi, une boucle catalytique d'oxydation peut tourner sans fin, sans transformations ni pertes ». Les chercheurs, inspirés par ce système auto-régénérant, l'ont reproduit dans leurs tubes à essais en remplaçant le centre métallique par des nanoparticules d'or et le cofacteur par un composé chimique de la famille des quinones. Les nanoparticules d'or sont ancrées à la surface d'un nanotube organique, fabriqué par des méthodes de chimie conventionnelles. *« Cette catalyse biomimétique est réalisée dans l'eau, à température ambiante. Elle ne demande aucune autre source d'oxydant que l'oxygène de l'air et permet la récupération puis la réutilisation du catalyseur sans perte d'activité »*, souligne le chimiste. Un pas vers un système catalytique idéal !

[Lien vers l'abstract dans Chemical communications](#)

³ La catalyse permet d'augmenter la vitesse d'une réaction. Ici, les chercheurs se sont intéressés à une réaction d'oxydation.

Thérapies ciblées : un brevet pour fabriquer *in vitro* des anticorps pleinement humains

Contact : Michel Léonetti

Les anticorps médicaments dédiés aux thérapies ciblées doivent être constitués de séquences humaines pour être bien tolérés par les patients. Au CEA-IBITECS, des chercheurs ont breveté une méthode de fabrication *in vitro* d'anticorps pleinement humains.

Les thérapies à base d'anticorps ont envahi le marché du médicament depuis les années 1990. Elles sont aujourd'hui largement utilisées pour lutter contre les cancers, les maladies infectieuses ou inflammatoires. Ces anticorps sont spécifiques de cibles (cellules cancéreuses ou microorganismes infectieux, par exemple) qu'ils neutralisent directement ou avec l'aide des défenses immunitaires du patient. Ils sont fabriqués à partir de modèles murins et sont rarement constitués de séquences entièrement humaines. De ce fait, ils peuvent être imparfaitement tolérés par le patient. La fabrication d'anticorps pleinement humains doit donc être privilégiée pour limiter leurs effets secondaires. Pour atteindre cet objectif, les stratégies sont essentiellement fondées sur l'immunisation de modèles murins humanisés⁴. D'autres stratégies, encore perfectibles, permettraient d'éviter d'avoir recours aux modèles animaux. Elles sont basées sur l'immunisation *in vitro* de cellules sanguines. C'est à ces dernières que se sont intéressés des chercheurs du CEA-IBITECS.

Ils ont breveté une méthode améliorée de production d'anticorps humains *in vitro* à partir de cellules sanguines, qui fait appel à une protéine de fusion composée de trois entités : un antigène d'intérêt⁵ et deux protéines qui déclenchent la réponse immune⁶. « *Les techniques actuelles de fabrication d'anticorps humains in vitro ne fonctionnent pas bien et sont complexes à mettre en œuvre, raconte Michel Léonetti, biologiste au CEA-IBITECS. Notre méthode est plus simple et plus efficace. Elle consiste à créer une réponse immunitaire en éprouvette par la mise en culture de cellules sanguines de donneurs sains avec notre protéine de fusion. Cette dernière active les lymphocytes B qui sécrètent alors les anticorps souhaités⁷.* » Et de conclure : « *Ce brevet est méthodologique. Il reste à trouver le moyen d'isoler chaque lymphocyte sécréteur pour produire les anticorps en grande quantité, ce à quoi nous travaillons.* »

[Lien vers le brevet](#)

⁴ Il s'agit de modèles transgéniques dont le système immunitaire est reconstitué avec des leucocytes humains.

⁵ L'antigène d'intérêt est issu d'un organisme infectieux ou d'une cellule cancéreuse.

⁶ Le trans-activateur transcriptionnel du VIH et un ligand de cellules présentatrices de l'antigène.

⁷ Il s'agit d'immunoglobulines G spécifiques de la cible.

Cancers : vers un diagnostic simple et rapide

Contact : Xavier Gidrol

Les petits ARN, qui circulent dans tous les fluides biologiques, pourraient servir de biomarqueurs facilement accessibles pour détecter des cancers. Des chercheurs du CEA-IRTSV en ont découvert un qui permettrait le dépistage du cancer du sein.

L'ARN est connu pour participer à l'expression des gènes en protéines. Il existe de petites séquences, dénommées micro-ARNs, qui ont la capacité de réguler la fonction des gènes en bloquant leur expression. Certains micro-ARNs sont spécifiques de gènes actifs dans le développement des tumeurs (oncogènes), et d'autres, *a contrario*, régulent des gènes liés à la protection anti-tumorale (gènes suppresseurs de tumeurs). Faire les correspondances n'est pas une mince affaire. Il existe en effet plus d'un millier de micro-ARN, chacun régulant non pas un, mais plusieurs gènes.

Grâce à un algorithme statistique, une équipe du CEA-IRTSV a sondé une vaste banque de données prédictive et trouvé un groupe de 3 micro-ARNs⁸ ciblant des gènes communs, tous liés à la mobilité des cellules et l'organisation de leur squelette. Les chercheurs l'ont vérifié dans des cellules de cornée et ont démontré comment ils affectent la mobilité des cellules. La présence de l'un d'eux accroît l'invasion cellulaire, le reflet d'un caractère oncogénique, tandis que la présence des deux autres affaiblit l'agressivité des cellules, ce qui est plutôt caractéristique des suppresseurs de tumeurs. « *Bien que ciblant des gènes communs, la surexpression de ces micro-ARNs a un impact différent sur le devenir cellulaire* », souligne Xavier Gidrol, biologiste au CEA-IRTSV.

Les chercheurs se sont ensuite particulièrement penchés sur l'un des deux micro-ARNs suppresseurs de tumeurs, miR-940, très peu décrit dans la littérature scientifique. Plusieurs jeux de données concernant des malades atteints de cancers ont montré que son expression est significativement diminuée chez les patientes souffrant d'une tumeur mammaire. « *miR-940 est donc un biomarqueur potentiel pour le cancer du sein*, affirme Xavier Gidrol. *Ceci pourra se faire simplement et rapidement, avec une analyse QPCR⁹ d'un prélèvement de sang ou d'urine.* »

Toxicologie

Nanoparticules : une méthode pour étudier les faibles doses

Contact : Corinne Cassier-Chauvat

Pister la bioaccumulation des nanoparticules à des doses environnementales est un vrai défi scientifique. Deux équipes du CEA Saclay (DSM-Iramis et DSV-IBITECS) sont parvenues à

⁸ Il s'agit de miR-661, miR-612 et miR-940.

⁹ *Quantitative polymerase chain reaction* pour amplification en chaîne par polymérase en temps réel. Il s'agit d'une technique classique de biologie moléculaire qui permet de dupliquer en grand nombre une séquence d'ADN ou d'ARN connue.

suivre le parcours de nanoparticules de dioxyde de titane à des doses environnementales dans des moules de rivière.

Les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO_2) se retrouvent couramment dans les produits d'usage quotidien et notamment dans les produits cosmétiques¹⁰. Elles se disséminent donc inévitablement dans notre environnement. Leur faible diamètre¹¹, inférieur à 100 nm, pose la question de leur toxicité pour les organismes vivants. S'accumulent-elles tout au long de la chaîne alimentaire ? Passent-elles les barrières digestive, hémato-encéphalique ? Sont-elles rejetées par l'organisme, accumulées dans certains organes ? Avec quels effets sur la santé ? La difficulté réside dans la modélisation d'effets de doses réalistes, qui sont extrêmement faibles¹².

Dans le cadre du programme transverse de Toxicologie du CEA, les physico-chimistes de la DSM et les biologistes du CEA-IBITECS ont montré qu'il est possible de suivre les effets de nanoparticules TiO_2 à des doses environnementales. Les chercheurs ont utilisé comme modèle une moule d'eau douce, la Dreissène. Ils ont reproduit son environnement naturel avec une eau reconstituée de rivière (eau minérale sans polluants). « *On retrouve du Ti à l'état naturel un peu partout dans notre environnement*, explique Corinne Cassier-Chauvat, chercheur au CEA-IBITECS. *La difficulté technique est donc de discriminer le Ti naturel de celui provenant des nanoparticules manufacturées. Pour cela, le marquage des nanoparticules avec le ^{47}Ti , un isotope stable rare dans l'environnement, a été réalisé.* » Les Dreissènes ont donc été baignées dans de l'eau de rivière reconstituée contenant des nanoparticules marquées au ^{47}Ti à des doses environnementales. Elles ont également été nourries avec des cyanobactéries (base de la chaîne alimentaire) elles-mêmes « polluées » à faible dose par les nanoparticules. Après 1 heure d'exposition, les moules (hors coquille) ont été analysées par spectrométrie de masse révélant que les nanoparticules se sont accumulées et que la dose d'exposition et le degré de bioaccumulation sont directement corrélés. Pour tester si cette accumulation est transitoire ou stable, les moules ont été remises dans de l'eau non contaminée. Après 72h, la majorité des nanoparticules a été rejetée via le système digestif. Une infime partie a passé la barrière intestinale, pouvant alors potentiellement s'accumuler dans les tissus. Ce travail constitue une preuve de concept et montre que le marquage isotopique est pertinent pour mesurer la bioaccumulation de faibles doses de nanoparticules dans un organisme. « *Nos résultats sont préliminaires*, souligne Corinne Cassier-Chauvat. *Il faudra observer les effets à long terme et étudier l'influence de la taille et de la forme des nanoparticules sur la bioaccumulation et la toxicité.* »

¹⁰ Comme filtre ultra-violet dans les crèmes solaires ou comme blanchisseur dans les dentifrices. Ils sont aussi présents dans l'industrie alimentaire pour l'enrobage et le glaçage, dans l'industrie du bâtiment, etc.

¹¹ 1 nanomètre (nm) est 1000 millions de fois plus petit qu'un mètre.

¹² Par exemple, l'eau de Seine contient moins de 1 $\mu\text{g/l}$ de nanoparticules de TiO_2 manufacturées.