

A la Une

Le centre de la cellule, usine à cytosquelette

Contact: Manuel Théry

Des chercheurs du CEA-IRTSV, du CNRS et de l'UJF mettent en évidence un nouveau rôle pour le centrosome, organite central de la cellule rattaché à son noyau : l'assemblage de filaments d'actine, éléments du squelette des cellules. Le centrosome était jusqu'alors connu pour son implication dans l'assemblage d'un autre élément du squelette, les microtubules.

Le cytosquelette, squelette des cellules, est composé de plusieurs familles de filaments. Les deux principales sont les filaments d'actine et les microtubules. Les premiers, courts et souples, tapissent le pourtour des cellules et leur permettent de se déformer et de se déplacer. Les seconds, longs et rigides, forment une étoile à partir du centrosome qui se trouve au centre de la cellule. Les microtubules servent ainsi de rails aux moteurs moléculaires pour transporter les protéines d'un bout à l'autre de la cellule. La structure en étoile de leur réseau permet d'intégrer des informations depuis la périphérie de la cellule vers son centre. Dans cette nouvelle étude, l'équipe de recherche vient de montrer que le centrosome assemble également des filaments d'actine. Les deux grands réseaux du cytosquelette se rencontrent donc au centre de la cellule.

Les filaments d'actine et les microtubules sont déjà connus pour interagir physiquement et biochimiquement à la périphérie de la cellule. La croissance des microtubules affecte la contraction et l'assemblage des filaments d'actine et vice versa. Dans cette étude, les chercheurs ont mis en évidence une nouvelle interaction entre les deux réseaux au centre de la cellule. En effet, une observation minutieuse des cellules a révélé l'existence d'un réseau de filaments d'actine lié au centrosome. Des protéines impliquées dans l'origine de ces filaments ont également pu y être détectées.

Pour mener à bien cette observation, les chercheurs ont purifié des centrosomes. Les membranes des cellules ont pour cela été dissoutes afin de pouvoir en récupérer tous les constituants internes et isoler les centrosomes. Une fois déposés sur des lamelles de verre en présence de monomères de tubuline (constituants des microtubules), ils sont capables d'en induire la croissance. La surprise fut l'observation de leur impressionnante capacité d'induire également la croissance de filaments en présence de monomères d'actine. Cette analyse *in vitro*, en dehors des cellules, était la démonstration des capacités des centrosomes à induire

l'assemblage des deux types de réseaux. De nombreuses questions, quant au rôle de ces filaments d'actine liés au centrosome, restent à élucider. Les réponses seront déterminantes pour comprendre des mécanismes fondamentaux des cellules, tel que le transport intracellulaire par exemple, et comment ceux-ci se coordonnent avec les mouvements et la mécanique des cellules.

[The centrosome is an actin-organizing center | Nature Cell Biology](#)

Ce résultat a fait l'objet d'un communiqué de presse.

Calmer le système immunitaire quand il s'emballe

Contact: Paul-Henri Roméo

Des chercheurs du CEA-IRCM ont caractérisé une protéine qui module une réponse des macrophages suite à une réaction inflammatoire. Ces résultats pourraient permettre le développement de traitements très ciblés des cancers par immunothérapie.

Dans un organisme sain, le système immunitaire réagit à une menace intérieure ou extérieure de façon sagement dosée, ni trop, ni trop peu. Dans certains cas, notamment les maladies auto-immunes, l'équilibre est rompu et la réaction immunitaire s'emballe. Une équipe du CEA-IRCM, en collaboration avec des laboratoires français et européens, a identifié un des mécanismes contribuant à ce déséquilibre.

Les chercheurs se sont penchés sur l'interféron bêta (Ifnb), une glycoprotéine qui joue un rôle majeur dans la protection de l'organisme contre les infections virales ou bactériennes et dans le contrôle de la progression tumorale. Cette protéine est produite en particulier par les macrophages, des cellules qui initient une réponse immunitaire adaptée face à une agression tissulaire. L'expression de l'Ifnb est très contrôlée car un excès conduit à des effets très délétères comme des chocs septiques ou des maladies auto-immunes. Si l'initiation de l'expression de l'Ifnb suite à une agression tissulaire est bien caractérisée, les mécanismes moléculaires qui permettent l'arrêt de cette expression étaient jusqu'alors inconnus. Les chercheurs ont montré qu'une protéine, dénommée, TRIM33 permet d'éteindre l'expression de l'Ifnb dans ces cellules.

Ce régulateur de transcription, comme la famille de protéines à laquelle il appartient, joue un rôle majeur dans la réponse immune, en particulier suite à une infection virale. En étudiant les conséquences de l'absence de TRIM33 dans les macrophages, les biologistes ont montré que l'activation de l'expression du gène codant pour l'Ifnb au début d'une réaction inflammatoire n'était pas dépendante de TRIM33. En revanche, les macrophages n'exprimant pas TRIM33, ne peuvent pas éteindre l'expression de l'Ifnb à la fin de la réponse inflammatoire. De plus, les chercheurs ont montré que cette régulation est restreinte aux macrophages. Ces résultats montrent pour la première fois le rôle primordial de TRIM33 dans la régulation de l'expression de l'Ifnb par les macrophages. Ils ouvrent la voie au développement d'une modulation pharmacologique de l'expression de l'Ifnb dans ces cellules lors d'infections ou de maladies auto-immunes, ainsi que dans les cancers solides.

[TRIM33 switches off Ifnb1 gene transcription during the late phase of macrophage activation| Nature Communications](#)

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

Virus H5N1 : une enzyme aux deux visages

Contact: Martin Blackledge

On le sait depuis l'épidémie de grippe aviaire à Hong Kong en 1997, le virus H5N1 constitue une menace en santé publique, avec un taux de mortalité de 60% chez l'homme. Une équipe internationale impliquant l'IBS a réalisé une avancée importante dans la compréhension de son fonctionnement.

Les chercheurs ont en effet découvert qu'une partie de la polymérase du virus peut prendre deux formes (ou conformations). La première, dite « fermée », déjà connue, intervient dans la réplication du virus dans le noyau de la cellule infectée. La seconde, « ouverte », est identifiée pour la première fois. Les chercheurs ont montré que cette forme permet à l'enzyme de pénétrer dans le noyau pour jouer son rôle dans la réplication. Ils ont pour cela utilisé des techniques de biologie structurale, notamment la résonance magnétique nucléaire (RMN), moins précises que la cristallographie pour déterminer la structure, mais qui, en revanche, permettent d'étudier la « dynamique conformationnelle » des protéines en solution. Ces dernières sont ainsi dans un environnement bien plus proche de la réalité que celui des cristaux solides de la cristallographie.

L'équipe internationale a également découvert que le changement de conformation, de « fermée » à « ouverte », dépend de la température ambiante. Une donnée à prendre en considération lorsqu'on sait que le virus H5N1 infecte de nombreux organismes différents, aux températures variables. Par ailleurs, la grande flexibilité de la conformation ouverte laisse penser que sa fonction ne s'arrête pas au transport de la polymérase à l'intérieur du noyau cellulaire. Les recherches se poursuivent.

[Large-Scale Conformational Dynamics Control H5N1 Influenza Polymerase PB2 Binding to Importin \$\alpha\$ | JACS](#)

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

En direct des Labos

Mécanismes moléculaires et cellulaires du vivant

Transport entre le noyau et le cytoplasme : le secret de la rapidité

Contact : Martin Blackledge

Phénomène essentiel à la vie cellulaire, le transport de molécules entre le noyau et le cytoplasme est à la fois rapide et sélectif, deux propriétés en général contradictoires. Une équipe de l'IBS donne la clé moléculaire du phénomène.

Le transport de grosses molécules (protéines, ARN...) du cytoplasme vers le noyau, et inversement, est essentiel au fonctionnement de la cellule. Le mécanisme de ce phénomène, très difficile à visualiser, restait cependant controversé, en particulier en ce qui concerne la vitesse et la spécificité du transport. Une collaboration internationale entre l'IBS (CEA-CNRS, Grenoble), l'EMBL (Heidelberg), le HITS (Heidelberg) et l'université de Cambridge (Grande-Bretagne) vient de lever le voile en l'examinant au niveau moléculaire. La membrane nucléaire comporte des pores encombrés d'un enchevêtrement de nucléoporines, ou Nups, des protéines intrinsèquement désordonnées¹ riches en motifs phénylalanine-glycine². Cette barrière d'une trentaine de nanomètres d'épaisseur ne laisse passer que des protéines particulières, appelées transporteurs, qui assurent la navette entre l'intérieur et l'extérieur du noyau en emportant leur "cargaison". La seule façon pour une grosse molécule³ de franchir le pore est d'être prise en charge par un de ces transporteurs nucléaires.

Ce mécanisme suppose à la fois la reconnaissance spécifique du transporteur par les Nups et une extrême rapidité de leurs interactions, puisque la traversée ne demande que quelques millisecondes. Or la sélectivité des interactions protéiques implique en général une dynamique lente. Pour comprendre comment le pore nucléaire résout cette contradiction, l'équipe internationale a dû combiner plusieurs techniques: la fluorescence à molécule unique, la RMN, la simulation dynamique moléculaire et la mesure de la cinétique par fluorescence.

Il en ressort que les Nups, molécules flexibles en mouvement constant, interagissent avec les transporteurs de manière très ponctuelle, au niveau de leurs résidus phénylalanines. Ces interactions locales n'affectent ni la flexibilité globale de la nucléoporine ni sa dynamique. Individuellement, il s'agit de couplages – et découplages – ultrarapides, de faible affinité mais spécifiques. La multiplicité de ces interactions faibles assure une affinité globale suffisante, et leur constant renouvellement permet le passage rapide du transporteur. Ce résultat acquis sur les pores nucléaires pourrait contribuer à éclairer de nombreux autres phénomènes d'interaction dans lesquels sont impliquées des protéines désordonnées.

[Plasticity of an Ultrafast Interaction between Nucleoporins and Nuclear Transport Receptors| Cell](#)

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

Même prisonnières d'un cristal, les molécules bougent encore

Contact : Paul Schanda

La cristallographie aux rayons X permet de connaître la structure tridimensionnelle d'une molécule. Cependant, cette technique ne parvient pas toujours à reconstituer fidèlement la structure recherchée. Une étude impliquant l'IBS a montré que des mouvements résiduels continuent d'animer les protéines au sein d'un cristal et que ce mouvement « floute » l'image finale.

La cristallographie aux rayons X est la méthode la plus prolifique pour la détermination de structures de protéines. Pourtant, des cristaux macroscopiquement parfaits déçoivent une fois irradiés par les rayons X. Il a été proposé que des mouvements d'ensemble des protéines cristallisées puissent expliquer ce paradoxe. Mais cette supposée dynamique résiduelle lente n'a jamais été directement observée dans un cristal.

Les chercheurs de l'IBS, au sein d'une collaboration internationale impliquant le CEA, le CNRS et l'Université Joseph Fourier, ont utilisé sur l'ubiquitine, une protéine modèle, une approche combinant la spectroscopie par RMN à l'état solide, les simulations de dynamique moléculaire, et la cristallographie aux rayons X. La première de ces techniques indique que même cristallisées, les protéines restent animées de légers mouvements résiduels. Ces mouvements sont d'autant moins amortis que le cristal est moins compact.

En concordance, les données cristallographiques collectées sur les cristaux indiquent que plus le cristal est compact, mieux il diffracte – favorisant alors la détermination de la structure des protéines qui le composent. Pour reconstituer le mouvement des protéines dans ces réseaux cristallins, des simulations de dynamique moléculaire ont été réalisées. Ces dernières suggèrent qu'au sein des cristaux, les protéines tournent sur elles-mêmes de quelques degrés, à l'échelle de la microseconde. En accord avec les mesures de RMN, ces « balancements » sont d'autant plus marqués que le cristal est peu compact.

Cette étude contribue à mieux comprendre l'impact des mouvements moléculaires lents sur la qualité des structures cristallographiques, mais aussi plus généralement la dynamique des molécules à l'échelle atomique. Elle explique par ailleurs en partie pourquoi certains cristaux, quoique macroscopiquement « beaux », se révèlent vides d'information une fois étudiés par cristallographie.

[Observing the overall rocking motion of a protein in a crystal | Nature Communications](#)

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

Mimer les ruses d'une guêpe pour délivrer des médicaments

Contacts : Valérie Barbe, Arnaud Couloux, Jean-Marc Aury

La guêpe parasite *Venturia* a le don d'inactiver l'immunité des chenilles qu'elle colonise. Comment ? Grâce à de l'ADN de virus qu'elle a intégré dans son génome au cours de l'évolution et qui lui permet de cibler les cellules immunitaires de son hôte. Cette découverte laisse entrevoir de nouvelles stratégies de délivrance de médicaments.

Les guêpes parasites constituent une part importante de la biodiversité et jouent un rôle majeur dans le contrôle des populations d'insectes, notamment celles qui ravagent les cultures. Un grand nombre de ces guêpes pondent et se développent au stade larvaire à l'intérieur de chenilles. Pour cela, elles paralysent le système immunitaire de leurs hôtes. Un groupe de scientifiques, animé par l'Inra et le CNRS et composé notamment de chercheurs du CEA-IG, a découvert les rouages de ce mécanisme original chez la guêpe *Venturia canescens*.

Lorsque la guêpe pond dans la chenille parasitée, elle sécrète des protéines immunosuppressives dirigées contre son hôte. Les chercheurs ont découvert que l'ADN de cette guêpe comporte des fragments du génome d'un virus qui lui servent à enrober ces protéines, à les diriger puis et à les introduire dans les cellules immunitaires de la chenille afin de les inactiver. Ce virus domestiqué, de type « nudivirus », a été capturé par la guêpe. Au cours de l'évolution, seule l'information génétique du virus permettant la formation d'enveloppes a été conservée.

En plus de leur intérêt pour les sciences de l'évolution, ces travaux pourraient avoir des retombées dans la conception de nouveaux vecteurs thérapeutiques pour délivrer des molécules chez l'homme.

[Recurrent DNA virus domestication leading to different parasite virulence strategies | Science Advances](#)

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

Fœtus et nouveau-né prématuré : des cerveaux rapidement différents

Contact: David Germanaud

Une étude récente en IRM du fœtus et du nouveau-né, s'inscrivant dans la collaboration entre l'Institut de Neurosciences de La Timone à Marseille et NeuroSpin, a mis en évidence que le cerveau des prématurés diffère très rapidement après la naissance du cerveau des fœtus de même âge gestationnel encore dans le ventre de leur mère.

Grâce à la comparaison de 27 prématurés imagés rapidement après la naissance et de 14 fœtus imagés dans le ventre de leur mère (âgés entre 21 et 36 semaines), les chercheurs ont remarqué qu'au même âge gestationnel, le cerveau des prématurés a des plis beaucoup plus marqués. Selon David Germanaud (UNIACT, NeuroSpin ; Robert-Debré, AP-HP) qui a participé à cette étude aux côtés de Jessica Dubois (Unicog), Jean-François Mangin et François de Guio (UNATI), ce résultat implique que pour la surveillance des enfants prématurés, il ne faut pas se référer à ce qui se passe normalement in utero, et vice versa. Il souligne aussi que les différences observées entre fœtus et nouveau-nés prématurés suggèrent que le grand bouleversement de la naissance affecte rapidement l'architecture cérébrale, un phénomène jusqu'ici insoupçonné. La transition entre in et ex utero a un impact nettement visible sur la conformation du cortex, cet impact étant au moins dépendant de l'âge gestationnel auquel survient la naissance prématurée.

Cependant, cette accentuation précoce du plissement n'implique pas un développement plus rapide sur le long terme. En effet, si le développement du plissement cérébral semble prendre de l'avance à la naissance du prématuré, d'autres études montrent que lorsqu'un prématuré arrive à la date initialement prévue pour sa naissance, son cerveau paraît au contraire moins plissé que celui d'un enfant né à terme.

[Are Developmental Trajectories of Cortical Folding Comparable Between Cross-sectional Datasets of Fetuses and Preterm Newborns? | Cerebral cortex](#)

Respirer : pourquoi est-ce si difficile pour les prématurés

Contact: Sabine Bailly

Chez l'homme, l'installation de la circulation pulmonaire à la naissance requiert un changement physiologique brutal : la fermeture du canal artériel. Des chercheurs du CEA-IRTSV ont découvert deux acteurs moléculaires de cette métamorphose. Leurs résultats ouvrent des pistes pour comprendre et potentiellement traiter la persistance du canal artériel, fréquente chez le prématuré.

Le fœtus est un petit être aquatique. Car la circulation sanguine du fœtus, reliée au placenta de sa mère, ne passe pas par ses poumons. Pour cela, il dispose d'un canal entre le tronc pulmonaire et l'aorte pour permettre au sang d'éviter la circulation pulmonaire. Lors de sa naissance, un bébé subit un grand choc, celui de sa première respiration. Ce passage de la vie aquatique à la vie aérienne implique un changement physiologique ténu, mais capital : le canal artériel se referme rapidement et de façon irréversible. Certains enfants, en particulier les grands prématurés présentent un défaut de fermeture de ce canal (fréquence de 50 % pour ceux nés à 6 mois). Cette pathologie, nommée persistance du canal artériel (PCA), peut entraîner, entre autres, un souffle voire une insuffisance cardiaque et des retards de croissance. La PCA est alors traitée médicalement et/ou chirurgicalement.

Une équipe du CEA-IRTSV, en collaboration avec le CHU de Grenoble, a découvert le rôle majeur de deux protéines dans la fermeture du canal artériel. D'autres études avaient déjà révélé l'importance de ces protéines, appelées BMP9 et BMP10, dans la signalisation cellulaire liée aux systèmes sanguins et lymphatiques¹. « *Des souris dont le gène (et donc la protéine correspondante) BMP9 est déficient présentent une fermeture anormale du canal artériel,* explique Sabine Bailly, chercheuse au CEA-IRTSV. *En outre, le blocage de BMP10 chez les souriceaux obtenu par l'addition d'un anticorps anti-BMP10 empêche le remodelage de ce canal et entraîne la réouverture du canal artériel.* » Les chercheurs ont réussi à montrer qu'une étape de transformation cellulaire nécessaire à ce remodelage implique BMP9 et BMP10. Aussi, ils sont parvenus à identifier chez deux patients présentant une PCA des anomalies dans une région du génome humain comprenant 8 gènes, dont celui codant pour BMP10. Suite à ces résultats, de nouvelles perspectives thérapeutiques pour traiter les enfants atteints de cette pathologie pourraient voir le jour.

[BMP9 and BMP10 are necessary for proper closure of the ductus arteriosus | PNAS](#)

Innovation diagnostique et thérapeutique

Ebola : le test de diagnostic rapide fait ses preuves

Contact: Laurent Bellanger

Le test de diagnostic rapide de la maladie à virus Ebola a été évalué plusieurs mois sur le terrain. Le marquage CE du test conduit à autoriser son utilisation comme outil de diagnostic.

[Le test de diagnostic rapide d'Ebola, développé dans l'urgence de la crise sanitaire de 2014 et 2015 par une équipe CEA-IBITECS¹](#), avec l'appui du laboratoire de haute sécurité biologique P4 Inserm Jean Mérieux (Lyon), permet de diagnostiquer la maladie en 15 minutes maximum à partir de quelques gouttes de sang ou de sérum.

Ce test de terrain, baptisé eZYSCREEN, est simple d'emploi et ne nécessite pas d'appareillage sophistiqué ni même d'électricité. La lecture du résultat est directe et visuelle. Un stockage de

¹ Equipe anciennement CEA-IBEB

8 mois et demi à 30°C et de 14 jours à 45°C n'ont pas altéré ses performances, ce qui prouve sa grande robustesse et sa stabilité.

Il a été évalué en conditions réelles, notamment dans les Centres de Traitement Ebola de Coyah et de Forécariah en Guinée Conakry (Croix Rouge Française), une partie des analyses ayant également été conduite à l'Hôpital National de Donka, à Conakry. Ces études, terminées en août 2015, montrent une excellente spécificité éliminant quasiment tout risque de résultat faussement positif et une sensibilité adaptée au concept d'emploi visé, à savoir identifier très rapidement *in situ* le maximum de cas possibles.

Ces résultats ont permis le marquage CE² du test Ebola eZYSCREEN®, indispensable à son utilisation lors des cas sporadiques qui continuent de se déclarer en Guinée et en Sierra Leone. L'objectif est de pouvoir éviter le déclenchement d'une nouvelle flambée épidémique de grande ampleur.

Des discussions sont en cours entre le CEA et des industriels du diagnostic afin de permettre la distribution la plus large possible du test.

Le Laboratoire Innovations technologiques pour la Détection et le Diagnostic (Li2D/DSV) du centre CEA de Marcoule vient de recevoir, pour l'ensemble de ce travail, le [Prix de l'Innovation Technologique des Trophées de la résilience sociétale 2015](#) attribué par le Haut Comité Français pour la Défense Civile.

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

L'AVC du nouveau-né entraîne des séquelles motrices d'ampleur variable

Contact: Lucie Hertz-Pannier

Des chercheurs et neuropédiatres ont publié dans la revue Human Brain Mapping les résultats d'une étude¹ réalisée à Neurospin conjointement avec les CHU de Saint-Etienne et d'Angers, chez des enfants de 7 ans ayant connu un AVC au cours des premières heures ou des premiers jours de vie. Ces enfants font partie de la cohorte nationale nommée 'AVCnn' pour 'Accident Vasculaire cérébral du nouveau-né'.

Cette étude analyse les relations entre les lésions cérébrales visualisées en IRM et les troubles moteurs chez des enfants de 7 ans et montre que les lésions localisées à proximité du faisceau cortico spinal ont des conséquences motrices importantes, en renforçant l'hypothèse que la plasticité du système moteur du tout petit n'est que très partielle.

Très fréquent chez l'adulte, l'accident vasculaire cérébral existe aussi chez l'enfant et chez le nouveau-né. Cet accident, spontané, donne lieu à une perte de fonction cérébrale due à un défaut d'irrigation de ces régions. Chez le nouveau-né, il peut survenir dans les premières heures de vie (entre 15 et 30 cas pour 100 000 naissances), en se manifestant par des

² Le marquage "CE" a été créé dans le cadre de la législation européenne. Il matérialise la conformité d'un produit aux exigences communautaires incombant au fabricant du produit. Il doit être apposé avant qu'un produit ne soit mis sur le marché européen

convulsions, une pause respiratoire ou des anomalies du tonus, voire passer inaperçu. Une étude IRM réalisée sur 38 enfants de 7 ans issus de la cohorte AVCnn (ayant souffert d'un AVC à la naissance), a été menée à NeuroSpin, avec comme objectif de mettre en évidence des corrélations entre la présence des séquelles motrices consécutives aux accidents ischémiques neonatals, et les caractéristiques des lésions à l'âge de 7 ans.

Cette étude a permis notamment de confirmer qu'un AVC aux premiers stades de la vie ne s'accompagne pas toujours de séquelles sur le contrôle moteur, puisque seulement 1/3 des enfants avaient une paralysie cérébrale unilatérale. Par ailleurs, les caractéristiques de l'AVC (localisation et taille) étaient très corrélées à l'existence d'un déficit moteur. En effet, certains enfants dont les lésions étaient parcimonieuses dans le système moteur primaire, n'ont pas développé de paralysie cérébrale (PC ou IMC) tandis que les enfants ayant des lésions endommageant au moins deux zones cérébrales impliquées dans le contrôle moteur, ont développé une paralysie cérébrale. Et parmi ces lésions, celles dont les conséquences sur le contrôle moteur étaient les plus néfastes touchaient le faisceau cortico-spinal, faisceau qui relie le cortex cérébral moteur aux motoneurons de la moelle épinière.

Ces résultats, issus d'une méthodologie nouvelle d'analyse des données morphologiques cérébrales, constituent un pas dans la compréhension du pronostic des accidents ischémiques chez les nouveau-nés, et pourraient permettre d'améliorer la prise en charge très précoce des petits patients. En effet, ils suggèrent que la plasticité du système moteur du nouveau-né est partielle, puisque aucun enfant avec des lésions significatives dans le système moteur n'était indemne de difficultés motrices à l'âge de 7 ans, ce qui incite à une prise en charge rééducative très précoce et soutenue.

[Long term motor function after neonatal stroke: Lesion localization above all | Humain Brain Mapping](#)

Pour augmenter les taux de grossesses par FIV

Contact: Sophie Brouillet, Nadia Alfaidy

En France, plus de 80 % des tentatives de fécondation in vitro se soldent par un échec. Des chercheurs du CEA-IRTSV et leurs partenaires ont montré que le dosage de la protéine PROK1 dans l'environnement des ovules permettrait d'augmenter les taux de réussite.

En France, l'infertilité concerne un couple sur six. Bon nombre d'entre eux se tournent vers l'assistance médicale à la procréation et notamment la fécondation in vitro (FIV). Cette dernière technique consiste à ponctionner des follicules ovariens et à isoler les ovules afin de les mettre en fécondation avec les spermatozoïdes in vitro dans une boîte de culture. Le ou les embryon(s) ainsi obtenus sont ensuite transférés dans la cavité utérine. Une équipe du CEA-IRTSV, en collaboration avec l'Université Joseph Fourier et le CHU de Grenoble, a montré que la présence de la protéine PROK1 dans le liquide folliculaire (lors du prélèvement) et dans le milieu de fécondation constitue un critère de bon pronostic pour une grossesse.

« Nous avons déjà montré que cette protéine, appelée aussi EG-VEGF, semblait être un candidat prometteur pour ses caractéristiques biologiques en lien direct avec la grossesse, en particulier pour son rôle dans le développement placentaire », expliquent Sophie Brouillet et

Nadia Alfaïdy, chercheuses au CEA-IRTSV. Or, une étude prospective chez 135 couples effectuée au CHU de Grenoble entre 2013 et 2015 a révélé que le dosage de PROK 1 constitue un critère pronostique additionnel de réussite. « *Ces résultats démontrent la faisabilité et l'intérêt du dosage de PROK1, ajoutent les biologistes. Cela pourrait permettre d'augmenter les taux de grossesse uniques, seul rempart contre les risques foeto-maternels associés aux grossesses multiples.* »

[PROK1 level in the follicular microenvironment: a new non-invasive predictive biomarker of embryo implantation | Journal of clinical Endocrinology and Metabolism](#)

Lutte anti-moustiques: une combinaison gagnante

Contact: Denis Servent

Une collaboration impliquant une équipe du CEA-IBITECS vient de mettre au jour le mécanisme d'action d'une combinaison insecticide-agent répulsif prometteuse pour la lutte contre les moustiques vecteurs de maladies.

Les maladies transmises par des moustiques – paludisme, dengue, chikungunya – sont aujourd'hui en recrudescence, sous l'effet notamment du changement climatique et de la globalisation des échanges. Or les insecticides pyréthrinoïdes, qui se heurtent à une résistance croissante des moustiques, sont progressivement retirés. Il est donc impératif d'imaginer de nouvelles stratégies de lutte, tout en diminuant autant que possible les doses de biocide afin de minimiser les impacts sur la santé humaine et l'environnement. Des approches combinant un agent répulsif et un insecticide ont été proposées. Des chercheurs de l'IRD (Institut de recherche pour le Développement, Montpellier) ont ainsi signalé un effet potentialisateur du répulsif le plus courant, le DEET (N, N-Diethyl-3-méthylbenzamide), sur la toxicité – pour les moustiques – du carbamate/proxopur, un insecticide non pyréthrinoïde. Le mécanisme de cette potentialisation restait cependant inconnu. Une collaboration impliquant cette équipe de l'IRD, le Simopro (Service d'Ingénierie Moléculaire des Protéines, un laboratoire du CEA-IBITECS à Saclay), l'université d'Angers et l'université Copernicus de Torun (Pologne), vient de le détailler en combinant diverses approches électrophysiologiques, pharmacologiques, d'imagerie calcique ainsi que de modélisation moléculaire.

Le carbamate agit en bloquant l'acétylcholinestérase (AChE), une enzyme qui régule le taux d'acétylcholine, un neurotransmetteur (molécule assurant le transfert du signal nerveux). Utilisant des neurones de blatte américaine, un modèle cellulaire établi pour l'étude des récepteurs à l'acétylcholine, les chercheurs ont d'abord confirmé expérimentalement l'effet potentialisateur du DEET sur l'action du carbamate. Fait intéressant, cette potentialisation ne se produit qu'avec de faibles concentrations de DEET.

Ils ont ensuite montré que le DEET se fixe sur des récepteurs particuliers à l'acétylcholine, dits muscariniques, ce qui déclenche une cascade complexe d'événements à l'intérieur du neurone, aboutissant finalement à augmenter la sensibilité de l'AChE au carbamate. Après avoir détaillé ce mécanisme sur les neurones de blatte, les chercheurs ont vérifié, *in vitro* et par modélisation, que le DEET n'a pas d'affinité pour les récepteurs muscariniques humains, ce qui laisse supposer l'existence d'un site de fixation spécifique aux insectes. Enfin, ils ont confirmé

in vivo sur des moustiques *Aedes aegypti*, espèce vecteur de la dengue, de la fièvre jaune et du chikungunya, que la combinaison DEET plus carbamate est plus létale que l'insecticide seul.

[The Repellent DEET Potentiates Carbamate Effects via Insect Muscarinic Receptor Interactions: An Alternative Strategy to Control Insect Vector-Borne Diseases | PLoS One](#)

Développements technologiques

Des micro-capsules 3D pour mimer des mini-prostates

Contact: Xavier Gidrol

La culture cellulaire classique en 2D, dans des boîtes de Petri, est limitée pour reproduire la complexité du vivant. Au CEA-IRTSV, une équipe a mis au point une technique de micro-capsules 3D et l'a testée sur des cellules de prostate.

Que ce soit pour reproduire une structure organique ou régénérer des tissus, la culture d'organoïdes 3D a le vent en poupe. Faire pousser des cellules, des tissus, voire des organes, sur une puce ou par bio-impression 3D n'est plus du domaine de la science-fiction. Une équipe du CEA-IRTSV participe à cette aventure.

Les chercheurs ont en effet mis au point une technique de microfluidique pour créer des micro-environnements douillets où les cellules peuvent être cultivées en 3D dans des conditions maîtrisées. Cette méthode consiste à générer un flux de gel biologique, composé de protéines et appelé hydrogel, et à le sectionner à l'aide d'un second flux d'huile. « *Nous fabriquons ainsi des microgouttelettes d'hydrogel, des capsules d'un diamètre de 200 micromètres environ, dans lesquelles on peut cultiver soit une, soit un ensemble de cellules* », explique Xavier Gidrol, responsable de l'équipe Biomix au CEA-IRTSV. Contrairement aux autres méthodes par hydrogel, l'espace confiné de ces capsules autorise le développement clonal de cellules de façon contrôlée. « *Nous sommes capables ainsi d'isoler une seule cellule qui prolifère et se différencie pour former un organoïde dans un environnement biologique homogène* », précise le chercheur.

Première application de cette nouvelle culture 3D : l'analyse de cellules sécrétrices. Les chercheurs ont travaillé sur des cellules de prostate, qui, comme toutes les autres cellules sécrétrices, fabriquent des acini, des structures en grappes où sont produites les sécrétions. Leur question : une seule cellule de prostate a-t-elle toute l'information nécessaire pour générer un tel édifice multicellulaire ? « *La réponse est oui*, affirme Xavier Gidrol. *Nous avons pu observer une seule cellule évoluer par capsule.* » Et de conclure : « *Les cultures 3D devraient impacter notre compréhension du vivant sur le plan fondamental et permettront aussi de réaliser des cribles pharmacologiques, notamment en oncologie, et des tests de toxicité dans des conditions plus proches de la réalité physiologique tout en permettant de réduire le nombre de tests sur les animaux.* »

[Controlled 3D culture in Matrigel microbeads to analyze clonal acinar development | Biomaterials](#)