

N° 04 • MARS 2015

# CEA**bio**

LES SCIENCES DU VIVANT AU CEA

PAGES 12-15  
**PANORAMIQUE**

Le rôle bénéfique  
du prion

Bisphénol A :  
des substituts suspects

Apprendre à lire pour  
mieux voir

Des gènes impliqués  
dans la taille des  
structures cérébrales

PAGES 3-11  
**GRAND ANGLE**

## Maladies infectieuses **L'éternel retour**

DE LA RECHERCHE À L'INDUSTRIE

**cea**

## Prendre de court les maladies infectieuses

Selon l'Organisation mondiale de la santé, une nouvelle maladie infectieuse fait son apparition chaque année dans le monde. Tous les cinq ans, l'humanité subit une crise majeure due à l'émergence ou à la résurgence d'un virus. L'année 2014 a ainsi été marquée par la flambée des épidémies dues au virus Ebola en Afrique de l'ouest et au chikungunya dans les Caraïbes. Au-delà des milliers d'autochtones touchés, plusieurs cas ont été répertoriés hors des foyers d'origine. Les agents pathogènes se déplacent vite et loin. Ils sont favorisés par de nouvelles conditions climatiques.

Des équipes de trois des instituts de la Direction des sciences du vivant du CEA, l'IMETI, l'IBEB et l'IBITECS, se consacrent au développement de stratégies de diagnostic, de prévention et de traitement des maladies émergentes et réémergentes. Elles disposent d'une solide expertise

dans ces domaines, ce qui a notamment permis de proposer en quelques mois un test de diagnostic rapide du virus Ebola, actuellement en cours d'évaluation sur le terrain. Elles s'appuient aussi sur de fortes compétences en biochimie, en biologie moléculaire, en virologie et en immunologie, ainsi que sur des équipements de pointe, pour développer des vaccins et des traitements.

Ces recherches sont également mises à profit dans la lutte contre le bioterrorisme basé sur l'utilisation d'agents pathogènes infectieux. Le dossier de ce numéro de CEAbio montre comment le CEA s'est engagé dans ces défis qui constituent des enjeux majeurs de santé publique. ●



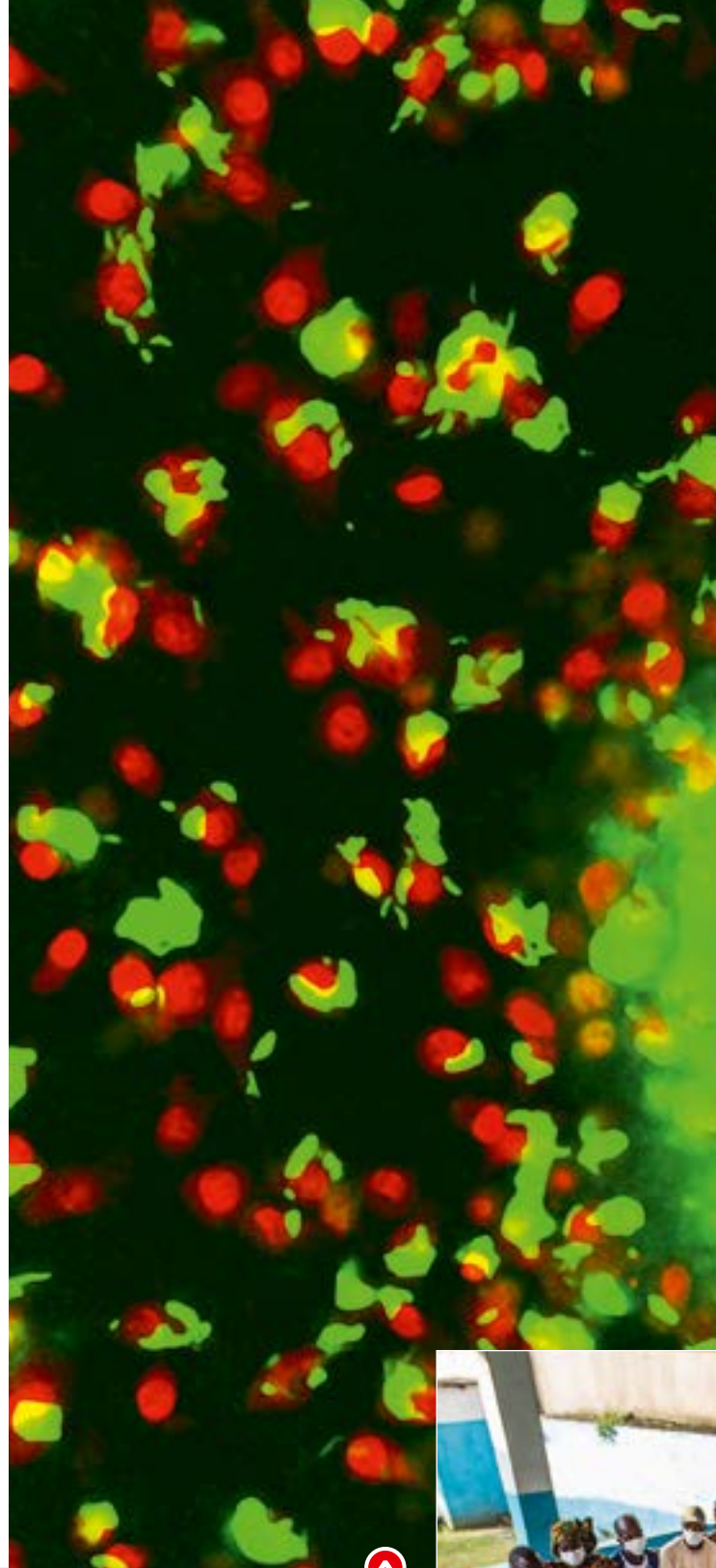
**“Tous les cinq ans, l'humanité subit une crise majeure due à l'émergence ou à la résurgence d'un virus.”**

**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](mailto:dsv@cea.fr)**

### 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.

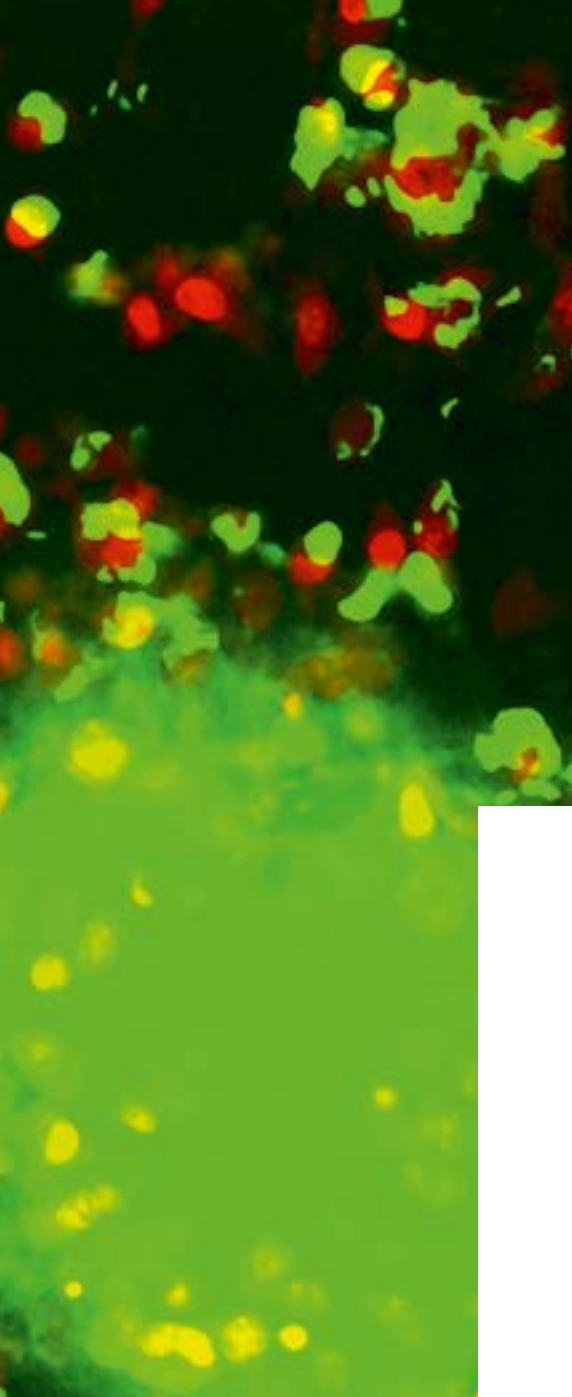


**En haut:** Colonisation de macrophages par *Mycobacterium tuberculosis*.  
© Inserm/Brodin, Priscille

**En bas:** Côte d'Ivoire, le centre de traitement antituberculeux de Koumassi à Abidjan. La tuberculose multirésistante est en augmentation dans de nombreux pays notamment en Afrique sub-saharienne mais aussi en Europe de l'est.  
© Photo Le Fonds mondial/David O'Dwyer

**Couverture:** Détection du virus chikungunya dans des cellules humaines en culture en microscopie à fluorescence. Marquage en bleu des noyaux et en orange des antigènes viraux.  
© Inserm/Institut Pasteur/Couderc, Thérèse





*Sida, « vache folle », Ebola, chikungunya... Des maladies infectieuses surgissent ou reviennent régulièrement sur le devant de la scène. Le CEA est un acteur majeur de la recherche dans ce domaine.*

# Maladies infectieuses

## L'éternel retour



**S**i l'apparition ou la ré-apparition de maladies infectieuses a toujours existé, ce phénomène s'est accéléré depuis quelques décennies. À tel point que le terme consacré de « **maladies émergentes** »\* a été forgé en 1989<sup>1</sup>. Deux types de situation se présentent. Une maladie due à un agent inconnu, ou connu mais très localisé et/ou touchant un petit nombre d'animaux, peut apparaître brusquement chez l'Homme et déclencher des épidémies, voire des pandémies. C'est l'émergence « vraie », dont l'exemple-type est le sida, qui s'est développé depuis l'Afrique au milieu du XX<sup>e</sup> siècle, maladie épidémique depuis le début des années 1980, considérée par l'OMS comme une pandémie mondiale depuis 2002. Plus récemment, la maladie provoquée par le **virus Ebola**\* en est aussi une bonne illustration. Autre situation : une maladie connue et considérée comme maîtrisée revient en

force sous l'effet de changements socio-environnementaux (moindre couverture vaccinale, circulation des personnes, réchauffement climatique...) et/ou par l'acquisition d'une résistance aux antibiotiques. Il s'agit alors de réémergence. Le modèle canonique en est la recrudescence de la **tuberculose**\* dans les pays développés, due à la conjugaison d'une >>>

**\* Maladies émergentes**

*Certaines pathologies non infectieuses, telles que l'obésité, peuvent être considérées comme émergentes.*

**Virus Ebola**

*Identifié au Zaïre en 1976 et responsable de plusieurs épidémies depuis 1994, dont l'actuelle en Afrique de l'Ouest.*

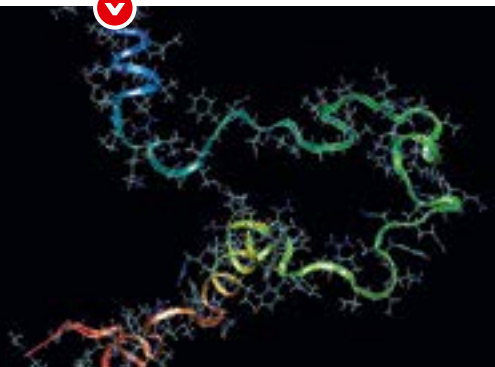
**Tuberculose**

*La tuberculose sévit continuellement dans les pays pauvres.*

<sup>1</sup> Par Stephen S. Morse, virologue de l'université Rockefeller (New York).

Simulation numérique du dépliement de la protéine prion.

© CEA



## Prion, la naissance d'un test

En 1996, il est prouvé que le prion, qui jusque-là n'affectait que le bétail, peut se transmettre à l'Homme : il devient dès lors l'agent d'une épidémie potentielle. Le service de Pharmacologie et Immunanalyse du CEA à Saclay, dirigé par Jacques Grassi, se tourne alors vers l'unité de Dominique Dormont, qui étudie le prion, avec une proposition simple : lui apporter sa connaissance des tests de dépistage immunologique pour développer un kit de détection rapide du prion. Tout avance très vite et, lorsqu'en 1998 l'Union européenne lance un appel d'offres, le CEA est en mesure de répondre avec un test qui sera validé en 1999. Commercialisé par Bio-Rad, le test a été l'un de ceux qui s'est le plus vendu au plan mondial. Cette aventure a débouché sur la création du réseau d'excellence européen NeuroPrion<sup>1</sup>, coordonné par le CEA et disposant d'une plateforme sur son centre de Fontenay-aux-Roses.

<sup>1</sup> Accédez au réseau d'excellence NeuroPrion en scannant le flashcode ci-dessous.



» multirésistance aux antibiotiques et de la forte prévalence du sida. Ce dernier, en s'attaquant au système immunitaire des personnes contaminées, a en effet accéléré l'émergence ou la réémergence de plusieurs maladies.

Comment le CEA en est-il venu à s'intéresser à ces pathologies ? L'histoire commence dans les années 1980. Un laboratoire<sup>2</sup> du centre CEA de Fontenay-aux-Roses mène des recherches sur l'effet des rayonnements ionisants contre lesquels le prion, responsable d'encéphalopathies spongiformes (maladies de Creutzfeldt-Jacob, de la vache folle, tremblante du mouton...), se révèle extrêmement résistant. À ce titre, celui-ci constitue pour les chercheurs du CEA un modèle pour étudier les mécanismes de radiorésistance. La nature du prion étant alors inconnue, l'une des hypothèses est qu'il pourrait être un rétrovirus. Pour étudier ce type de virus, le laboratoire se rapproche de l'Institut Pasteur qui travaille au même moment sur un rétrovirus à peine découvert : le VIH. C'est

Un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (L3) permet de protéger l'expérimentateur et l'environnement des risques induits par la manipulation d'agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave pour l'Homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs. L3 de l'IBITECS.

© L. Godart/CEA



ainsi que le CEA acquiert une expertise sur le VIH et le prion. Depuis, les recherches sur ces deux agents pathogènes se poursuivent au sein de l'Institut des maladies émergentes et thérapies innovantes du CEA (CEA-IMETI), notamment au Service d'immuno-virologie (SIV) et au Service d'étude des prions et des infections atypiques (SEPIA).

Aujourd'hui, le CEA-IMETI, ainsi que les Instituts de biologie et de technologies de Saclay (CEA-IBITECS) et de biologie environnementale et de biotechnologies (CEA-IBEB), mènent des recherches concernant des maladies aussi diverses qu'Ebola, le chikungunya, la grippe, la dengue, la tuberculose multirésistante... Le lancement du programme NRBC-E<sup>3</sup> a renforcé leur implication dans le domaine des pathologies émergentes. Les chercheurs s'appuient sur des outils et des compétences spécifiques : imagerie, laboratoires de haute sécurité de niveau 3, capacités d'hébergement et aptitude à développer des modèles animaux tant pour l'étude des interactions hôte-pathogène que pour la validation préclinique de vaccins et thérapies. La « culture » propre du CEA (habitudes des partenariats extérieurs, de la recherche préclinique collaborative, de la gestion de programme, de la valorisation) joue également. C'est pour toutes ces raisons qu'en 2006, lors de l'épidémie de chikungunya à la

Réunion, la Cellule d'intervention biologique d'urgence coordonnée par l'Inserm demande au CEA de développer un modèle animal de la maladie. Six semaines plus tard, c'était fait<sup>4</sup>. Cette expertise scientifique et technique continue d'être mise à profit pour lutter contre les maladies émergentes et ré-émergentes. ●

<sup>2</sup> Ce laboratoire était alors dirigé par Dominique Dormont, médecin du service de Santé des armées et chercheur CEA.

<sup>3</sup> Pour Nucléaire, Radiologique, Biologique, Chimique, Explosifs.

<sup>4</sup> Le même modèle est aujourd'hui dédié à l'étude de vaccins développés au CEA.



**BIOTERRORISME ET SANTÉ PUBLIQUE**

Cette mallette de terrain conçue par le service de Pharmacologie et d'immuno-analyse du CEA permet de détecter les toxines botuliques, les bacilles du charbon et de la peste.

© L. Godart/CEA

**Une plateforme européenne pour les maladies infectieuses**



Suivi de marquage cellulaire.  
© P. Stroppa/CEA

« IDMIT<sup>1</sup> naît de la rencontre entre une demande extérieure et un savoir-faire du CEA » explique Roger Le Grand, responsable du service d'Immuno-virologie. IDMIT, labellisé « Infrastructure nationale pour la biologie et la santé », est à la fois un centre de recherche et une plateforme dédiés à la recherche préclinique sur les maladies infectieuses. Implantée à Fontenay-aux-Roses, coordonnée par le CEA, elle associe l'Institut Pasteur, l'université Paris-Sud, l'Inserm, l'ANRS et Bertin Pharma. IDMIT est ouverte aux communautés scientifique et industrielle, à qui elle propose son expertise et ses capacités en analyse cellulaire, génomique fonctionnelle, métabolomique et imagerie *in vivo*.

<sup>1</sup> Infectious Diseases Models for Innovative Therapies, voir <http://www.idmitcenter.fr/>

**Des cibles communes**

Quel est le rapport entre la lutte contre le terrorisme et celle contre les maladies émergentes ou réémergentes? Réponse: leurs cibles communes, à savoir les agents pathogènes. Christophe Bossuet, chef de projet du programme interministériel NRBC-E au CEA, explique: « Les agents de ce qu'on appelle "la menace potentielle bioterroriste" posent également souvent des problèmes de santé publique<sup>1</sup>. » C'est le cas du virus Ebola ou ceux d'autres fièvres hémorragiques comme Marbourg ou Lassa, des **henipavirus\***, de la bactérie *Yersinia pestis*, responsable de la peste, de certaines toxines... Ces agents, qui provoquent pour certains des affections qualifiées d'émergentes ou de réémergentes, sont susceptibles d'être employés lors d'une attaque terroriste.

« En 2001, les attaques au bacille du charbon qui ont eu lieu aux États-Unis ont montré que le risque bioterroriste était bien réel, relate Christophe Bossuet. Pour mettre au point une stratégie de prévention, ainsi que des traitements, la France a lancé en 2005 le programme interministériel de recherche et développement NRBC-E. » Fort de ses compétences dans les domaines radiologique, chimique mais aussi biologique, le CEA a été désigné par les pouvoirs publics pour coordonner et mener les travaux en lien avec la DGA<sup>2</sup> et le SGDSN<sup>3</sup>, en y associant d'autres organismes de recherche. Objectif: développer et transférer vers l'industrie des technologies de détection, de traitement, de décontamination. Quant au passage de la défense à la santé publique, il se fait naturellement: en lien étroit avec les pouvoirs publics, les chercheurs du programme NRBC-E diffusent volontiers leurs travaux pour le bien commun. « Nous faisons attention à ne pas donner d'informations qui pourraient rendre le pays vulnérable, indique Christophe Bossuet. Cependant, la dualité de nos recherches, qui s'appliquent tant à la défense qu'à la santé, s'avère primordiale pour nous. » ●

**\* Henipavirus**  
Les henipavirus, Hendra et Nipah, ont été découverts dans les années 1990. Responsables d'hémorragies et œdèmes pulmonaires, ils provoquent une mort fulgurante chez les animaux et les humains.

<sup>1</sup> Le Centre pour le contrôle des maladies (CDC), aux États-Unis, tient une liste publique des agents pathogènes de la menace bioterroriste. Cependant, chaque pays établit sa propre liste, confidentielle.

<sup>2</sup> Direction générale de l'armement.

<sup>3</sup> Secrétariat général de la défense et de la sécurité nationale.

**DÉTECTION**

# Diagnostiquer pour mieux intervenir

**A**oût 2014: la flambée d'Ebola en Afrique de l'Ouest est déclarée «*urgence de santé publique de portée internationale*» par l'Organisation mondiale de la santé (OMS). En d'autres termes, l'épidémie est hors de contrôle dans les États touchés. Aussitôt, les chercheurs du Laboratoire d'ingénierie cellulaire et biotechnologie (LICB) du CEA-IBITECS, à Marcoule, se lancent dans la mise au point d'un test de détection rapide avec, dans leur escarcelle, des bio-molécules qui peuvent reconnaître spécifiquement le virus Ebola. «*Prise de contact avec un fabricant de test, la*

*société Vedalab<sup>1</sup>, mise au point des dosages, validation au Laboratoire de haute sécurité microbiologique de niveau P4 (Inserm) à Lyon sur la souche virale qui sévit en Afrique de l'Ouest... Nous étions sur tous les fronts*», se souvient Laurent Bellanger, responsable du LICB. Fin novembre 2014, moins de quatre mois après l'alerte de l'OMS, le test est prêt. Il est actuellement en cours d'évaluation sur le terrain en Guinée. Baptisé eZYSCREEN<sup>®</sup>, il a le format d'un test de grossesse et s'utilise directement à partir d'une goutte de sang, de plasma ou de sérum (Voir schéma p. 08-09). Sa mise au point rapide est l'un des exemples frappants de l'engagement du CEA dans la recherche sur la détection des agents pathogènes, dont certains responsables de maladies émergentes

Le virus Ebola (en rouge) en microscopie électronique.

© NIAID



## Identifier des marqueurs spécifiques

Combiner l'analyse immunologique à la spectrométrie de masse, tel est le défi qu'ont relevé les chercheurs du Laboratoire d'étude du métabolisme des médicaments (LEMM) du CEA-IBITECS, à Saclay. L'idée: identifier des marqueurs **peptidiques\*** spécifiques de cibles, agents pathogènes ou toxines, pour pouvoir les détecter. «*D'abord, nous capturons la cible grâce à des anticorps fixés sur des billes magnétiques et puis la concentrons grâce à un aimant. Elle est ensuite lysée pour libérer des marqueurs peptidiques*, explique François Becher, du LEMM. *Nous identifions ceux qui lui sont spécifiques par l'analyse en spectrométrie de masse d'une collection de souches de l'agent, en collaboration avec l'Institut Pasteur.* » Ce même outil permet ensuite de repérer, dans un prélèvement biologique, les marqueurs spécifiques d'une cible et ainsi de révéler sa présence. Applicable à la santé publique ou à la défense, cette technique vient en complément des tests immunologiques ou génétiques (PCR).



### Peptidiques

Les peptides sont des assemblages d'acides aminés et constituent notamment les protéines.



Le banc de spectrométrie de masse (IBITECS) permet de détecter des doses infimes d'agent biologique.

© L. Godart/CEA

ou réémergentes. Un engagement tant pour la défense, dans le cadre du programme NRBC-E, que pour la santé publique.

Lutter contre ces affections, c'est d'abord bien les diagnostiquer. « Dans ce domaine, nous sommes confrontés à différents niveaux de complexité », observe Christophe Bossuet, chef de projet du programme interministériel de recherche contre les menaces NRBC-E au CEA.

### Des tests rapides

Sur le terrain, les tests doivent être rapides et faciles à utiliser. Premiers diagnostics au plus près des populations touchées, ils facilitent la chaîne logistique et décisionnelle pour orienter les personnes et permettent de réduire le nombre d'examen à réaliser en laboratoire. Ces examens, nécessaires pour confirmer certains résultats, sont longs à mettre en œuvre : les prélèvements doivent être acheminés jusque dans un laboratoire doté d'équipements spéciaux pour ce type d'analyses, qui elles-mêmes prennent quelques heures. « Classiquement, les tests de diagnostic sont de deux ordres : immunologiques ou génétiques », précise alors Christophe Bossuet. Les tests immunologiques



#### Lymphocytes

Cellules du système immunitaires, appelées également globules blancs, producteurs d'anticorps.

#### Immortalisées

Une cellule est dite immortalisée lorsqu'elle a acquis, sous l'effet d'un traitement adapté, la capacité à se diviser de façon illimitée.

<sup>1</sup> Société spécialisée dans la fabrication de diagnostics rapides, basée à Alençon (Orne), [www.vedalab.com](http://www.vedalab.com)

<sup>2</sup> Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne.

se basent sur des anticorps, des protéines complexes, produites par le système immunitaire et capables de se fixer sur un site précis d'un agent pathogène. Ce sont de tels anticorps, très spécifiques et appelés monoclonaux que l'équipe du LICB a utilisés pour élaborer le test de détection rapide du virus Ebola. « Ces anticorps sont fabriqués par des lignées de **lymphocytes\*** que nous avons **immortalisées\***, décrit Laurent Bellanger. Elles proviennent de souris auxquelles nous avons injecté un pseudovirus recombinant qui imite le virus Ebola. » À la manière d'un vaccin, le pseudovirus a induit la production d'anticorps par les cellules du système immunitaire des rongeurs.

### La peste revient

Les chercheurs du Laboratoire d'études et de recherches en immuno-analyse (LERI) du CEA-IBITECS, à Saclay, emploient également cette technique de production d'anticorps par des cellules immortalisées. Ils ont mis au point des tests de détection rapide de la peste et d'autres infections bactériennes graves, comme la morve ou la mélioïdose.

« La peste n'est pas une maladie du passé, explique Stéphanie Simon, responsable du laboratoire. Elle sévit encore en Inde, en Chine, au Brésil... Et sans que nous ne comprenions vraiment pourquoi, elle réémerge dans certaines parties du globe, comme en Algérie en 2003. » À la manière d'un test rapide de grossesse, la bandelette mise au point au LERI, sur laquelle sont fixés des anticorps monoclonaux dirigés contre *Yersinia pestis*, affiche une ligne violette si le bacille est présent dans le sang du patient. « En seulement une demi-heure, les primo-intervenants peuvent confirmer ou non une suspi-

cion de peste sans connaissances particulières ni appareillage lourd », estime la chercheuse.

Efficaces sur le terrain, les tests rapides nécessitent quand même confirmation en laboratoire. Là, des machines plus précises prennent le relais. « La technologie de référence est la PCR<sup>2</sup>, expliquent Fabienne Gas, du CEA-IBITECS, et Valérie Tanchou, du CEA-IBEB, à Marcoule. Elle permet d'amplifier et de mesurer la quantité d'ADN d'un agent pathogène dans un échantillon. » Pour cela, il faut élaborer d'autres molécules de reconnaissance que les anticorps : des sondes génétiques. « L'idée est de repérer des séquences génétiques qui sont spécifiques à un pathogène, indiquent les deux chercheuses. Ainsi nous pouvons modéliser des sondes génétiques complémentaires qui vont se fixer sur l'ADN cible et révéler sa présence par fluorescence. » Le travail est subtil : il faut trouver des séquences d'ADN propres à chaque agent, pour éviter que la sonde ne repère des micro-organismes génétiquement proches mais non pathogènes. De plus, ces régions ne doivent pas être trop prédisposées aux mutations, ce qui rendraient le test inopérant. Les >>>

Dans le spectromètre, les échantillons sont ionisés pour être analysés.

© L. Godart/CEA





Le test eZYSCREEN, actuellement en cours d'évaluation en Afrique de l'Ouest.

© L. Godart/CEA

>>> sondes génétiques mises au point au CEA à Marcoule, contre les virus des fièvres hémorragiques (Ebola, Marbourg, Machupo...) ou contre des bactéries (*Bacillus Anthracis*, *Yersinia pestis*...), sont si précises qu'il est possible de mener plusieurs diagnostics sur le même échantillon ; c'est le multiplexage. «*Nous avons aujourd'hui des tests en quadruplex, c'est-à-dire dirigés contre quatre pathogènes en même temps*», indique Fabienne Gas. Ces sondes génétiques ont d'ores et déjà été envoyées dans un centre hospitalier à Lille pour y être testées.

On l'aura compris, les molécules de reconnaissance conditionnent l'efficacité d'un diagnostic. Les chercheurs du CEA engagés dans la lutte contre les pathogènes émergents ou ré-émergents en sont conscients. Christophe Bosuet le résume ainsi : «*mettre au point un bon test de détection, qu'il soit immunologique ou génétique, c'est d'abord avoir les bons réactifs.* » Et en la matière, les laboratoires du CEA recèlent des trésors. ●

Lecture du test de diagnostic rapide du virus Ebola.

© Magali Vacher/CEA



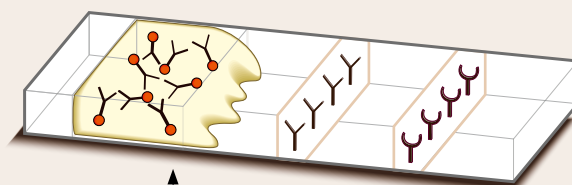
## Principe de fonctionnement d'eZYSCREEN, test de diagnostic rapide du virus Ebola

Le test de diagnostic est réalisé dans un boîtier rectangulaire de quelques centimètres, comprenant une petite ouverture pour déposer l'échantillon prélevé sur une personne (goutte de sang, de sérum ou de plasma) et une fenêtre de lecture du résultat.

Une fois à l'intérieur du boîtier, l'échantillon migre par capillarité, franchissant la bande test puis la bande de contrôle.

Environ 15 minutes après le dépôt de l'échantillon, le résultat du diagnostic apparaît dans la fenêtre de lecture : il est négatif si une bande apparaît, positif si deux bandes apparaissent. Explications.

**Absence de virus dans l'échantillon**



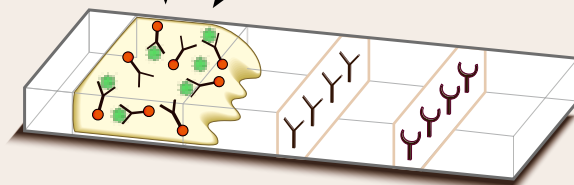
La migration de l'échantillon entraîne les Ac antivirus marqués, liés ou non à des virus.



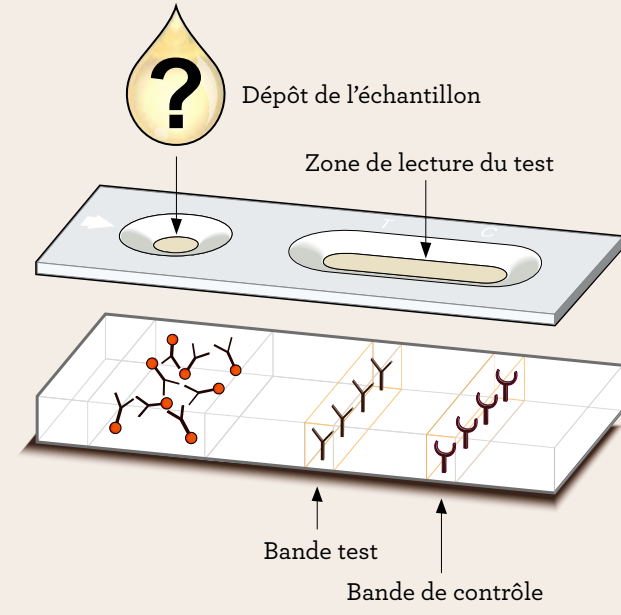
Les virus se lient aux Ac antivirus marqués.



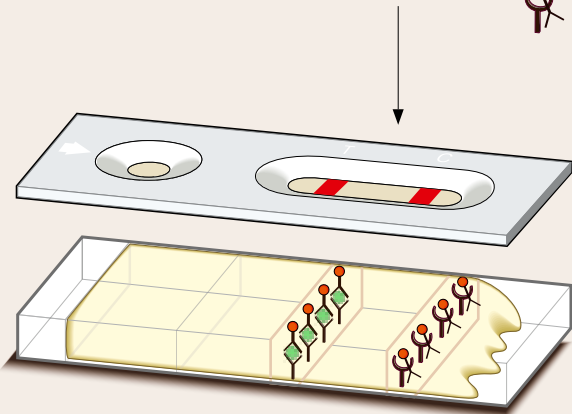
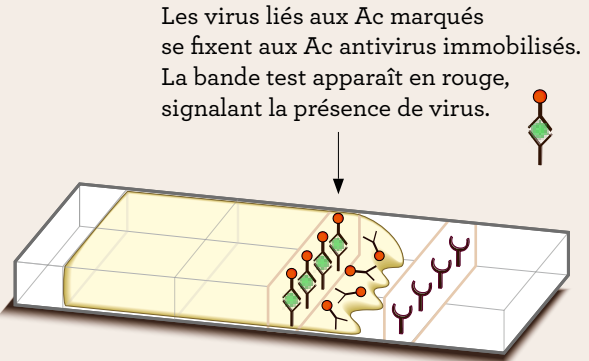
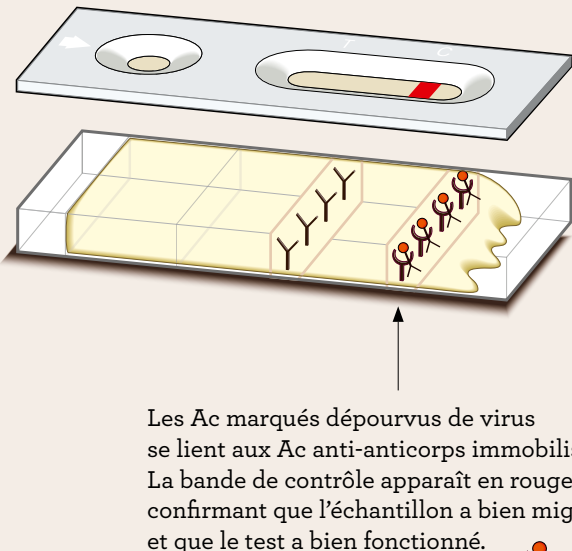
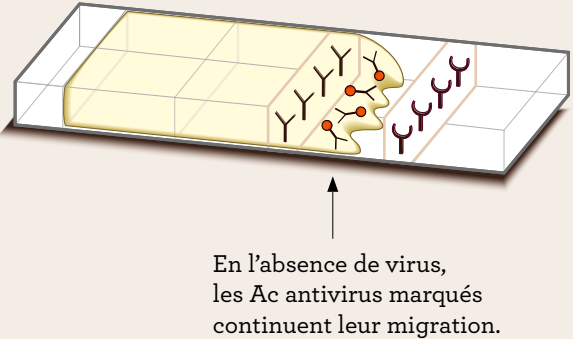
**Présence de virus dans l'échantillon**







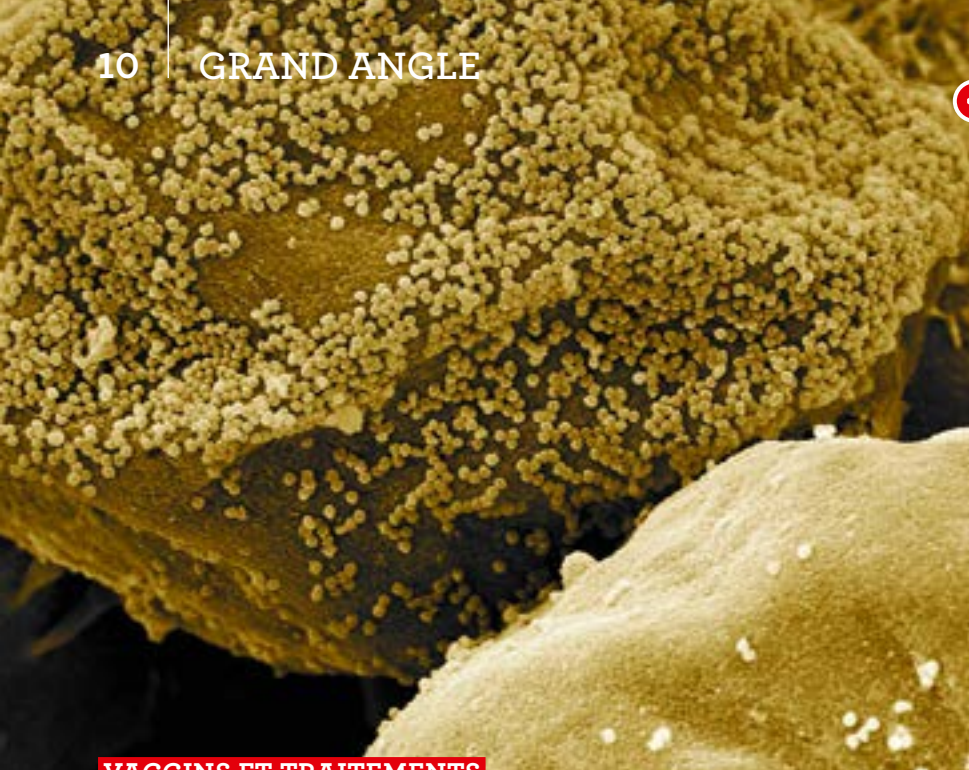
- Ac = anticorps
- Marqueur
- Virus
- Y Ac antivirus immobilisé
- Y Ac antivirus marqué et non immobilisé
- Y Ac anti-anticorps immobilisé





Cellule massivement infectée par le VIH.

© Inserm/Roingard, Philippe



VACCINS ET TRAITEMENTS

# Des stratégies contre les virus rebelles

**P**our se prémunir contre les agents pathogènes responsables de maladies émergentes ou réémergentes, deux solutions: le vaccin ou le traitement médicamenteux. Dans ce domaine, Ebola, chikungunya, VIH, H5N1 ou encore *Mycobacterium tuberculosis* ne sont pas logés à la même enseigne: certains se laissent facilement apprivoiser, d'autres résistent encore et toujours aux biologistes. « *Chaque micro-organisme a ses spécificités qui vont influencer la stratégie vaccinale* », observe Roger Le Grand, directeur du Service d'immuno-virologie (SIV) du CEA-IMETI.

Récemment, des rongeurs et des primates modèles ont pu être protégés contre le chikungunya à l'aide de vaccins développés dans le cadre du projet européen ICRES<sup>1</sup> dont le SIV est partenaire (deux vaccins à base de virus atténué et génétiquement modifié, et un à

base d'ADN synthétique). « *Le chikungunya, identifié dans les années 1950 en Afrique de l'Est, est transmis par les moustiques Aedes, indique Pierre Roques, qui a participé à ces recherches. D'abord confiné à l'Afrique et à l'Asie du Sud, il se répand maintenant sur tous les continents et pose un vrai problème de santé publique.* » On se souvient de l'épidémie de chikungunya dans les îles de l'océan Indien, notamment sur celle de la Réunion, en 2005, qui avait affecté plusieurs centaines de mil-

liers de personnes et provoqué une grave crise économique et sanitaire. Le virus a connu une expansion rapide aux États-Unis en 2014 après avoir atteint les Caraïbes pour la première fois en novembre 2013 (Voir CEAbio N°3, *Une piste vaccinale contre le chikungunya*, pages 9 à 11).

Contre Ebola aussi, les espoirs sont permis. Plusieurs vaccins sont à l'essai un peu partout dans le monde. « *Nous avons observé que certains patients pouvaient contrôler l'infection*, explique Roger Le Grand. *Cela veut dire que la réponse immunitaire de leur organisme, notamment la réponse par anticorps, est efficace. Il doit donc être possible d'aider l'organisme avec un vaccin.* »

## Vers un super vaccin ?

Cependant, la partie n'est pas toujours définitivement gagnée avec un vaccin. Contre la grippe saisonnière par exemple, le vaccin doit être élaboré chaque année selon les souches du virus qui ont circulé l'hiver précédent et qui sont donc les plus susceptibles d'être encore présentes. Et les nouvelles souches, comme H5N1, posent de sérieux problèmes. « *Parce qu'ils ont profondément muté, certains virus grippaux sont susceptibles de provoquer des pandémies contre lesquelles nous n'avons aucun moyen de protection* », explique Roger Le Grand. D'où les recherches menées au CEA pour mettre au point un vaccin universel contre la grippe. Les biologistes essaient d'identifier des parties communes à tous les virus.

Une autre pandémie résiste encore aux virologues: celle du VIH. Aujourd'hui, plus de 35 millions de personnes vivent avec lui. Jusqu'à présent, le sida a fait 39 millions de victimes. Bien que la recherche d'un vaccin ait débuté rapidement après l'identification du virus dans les années 1980, les résultats sont

La plateforme de chimie combinatoire de l'IBITECS a permis la découverte de deux antidotes de la ricine grâce à un crible biologique.

© L. Godart/CEA



La chimiothèque de l'IBITECS renferme les molécules chimiques à tester.

© L. Godart/CEA



Ce cytomètre en flux permet de réaliser des analyses cellulaires multiparamétriques.

© P. Stroppa/CEA

## Les technologies au service de la santé

Pour conduire leurs recherches sur les maladies émergentes, les scientifiques du CEA disposent de technologies innovantes. Ainsi le CEA-IMETI accueille-t-il la plateforme de cytométrie en flux FlowCyTech. « Couplé à un spectromètre de masse, le cytomètre en flux de type CyTof peut déterminer une quarantaine de paramètres cellulaires contre seulement une vingtaine dans les machines standards », explique Antonio Cosma, son responsable. En analysant les cellules une à une, le CyTof permet par exemple de détecter les antigènes en surface ou de comparer l'action de candidats-vaccins. Cette action peut également être évaluée par imagerie optique. Catherine Chapon, du SIV, analyse les mécanismes immunologiques déclenchés par la vaccination, en marquant à l'aide de fluorophores des antigènes et des cellules immunitaires. « Nous évaluons ainsi le comportement des cellules face au vaccin, contre le VIH notamment. »

loin d'être concluants. « À ce jour, les essais cliniques sur l'Homme se sont tous soldés par des échecs, regrette Roger Le Grand. L'organisme ne sait pas se défendre contre ce virus et nous ne savons pas l'éradiquer. Les stratégies qui ont fonctionné contre la grippe saisonnière, la rougeole, la variole sont inopérantes. »

### Contenir le virus

En attendant, les traitements se révèlent de plus en plus efficaces. Pris moins souvent, avec moins d'effets secondaires, ils permettent de contenir le virus, à défaut de l'éliminer totalement. Ils peuvent même être utilisés en prophylaxie (mais le préservatif reste à ce jour le seul moyen de protection réel contre le VIH). « Les traitements post-exposition peuvent empêcher certaines contaminations et les crèmes microbicides, vaginales ou rectales, présentent un taux d'efficacité de 50 %, décrit Roger Le Grand. Ce n'est pas la panacée, mais c'est déjà une première barrière. »

Des traitements contre d'autres maladies émergentes pourraient aussi voir le jour grâce aux recherches sur le bioterrorisme. Les équipes du CEA-IBITECS ont récemment identifié des molécules, dont l'une appelée Retro-2, protégeant des rongeurs contre des doses mortelles de ricine. « Une vingtaine de milligrammes de cette toxine végétale constitue

une dose mortelle pour l'Homme », explique Daniel Gillet, responsable de l'équipe Interactions toxines membranes du Laboratoire de toxicologie moléculaire et biotechnologies (LTMB) du CEA-IBITECS. Retro-2 combat la ricine en bloquant son transport à l'intérieur de la cellule (transport dit « rétrograde », de la surface de la cellule vers le réticulum endoplasmique). Or, cette molécule a aussi montré son efficacité contre la toxine de Shiga, produite par certaines souches de la bactérie *Escherichia coli* dont l'une a provoqué une épidémie sans précédent en 2011 en Allemagne<sup>2</sup>. « De nombreux autres micro-organismes empruntent aussi cette voie rétrograde », note Daniel Gillet. De là à envisager un traitement « à large spectre », il n'y a qu'un pas que les scientifiques n'ont pas hésité à franchir : les tests ont commencé sur Ebola et les résultats sur le parasite *Leishmania* sont d'ores et déjà concluants. ●

<sup>1</sup> Integrated Chikungunya RESEARCH, [www.icres.eu](http://www.icres.eu)

<sup>2</sup> Des graines germées de fenu grec contaminées par une souche d'*E. coli* ont provoqué des intoxications alimentaires, entraînant des diarrhées hémorragiques, des syndromes hémolytiques et urémiques, et près de 50 décès.

Graines de ricine.

© L. Godart/CEA





Présence de protéines prions dans les cellules neuronales visualisées par des particules d'or de 10 nm, au niveau des vésicules présynaptiques. Synapses d'hippocampe de hamster normal.

© Inserm/Jean-Guy Fournier

### MÉCANISME MOLÉCULAIRE

## Le rôle bénéfique du prion pour les cellules

**M**aladies de la « vache folle », de Creutzfeldt-Jakob, tremblante du mouton... Le prion est tristement célèbre depuis les années 90. Il est alors désigné responsable, sous une forme anormale, de la transmission et du développement de ces maladies dégénératives du système nerveux central. Pourtant, la protéine prion sous sa forme normale (PrP) est présente chez tous les mammifères, notamment dans les neurones. Des chercheurs du CEA-IRCM et du CEA-IMETI viennent de découvrir sa fonction, jusqu'alors inconnue : elle est bénéfique pour les cellules ! La PrP intervient en effet dans la réparation des dommages de l'ADN liés à un stress oxydatif : surexprimée très vite après le début du stress,

elle s'accumule dans le noyau de la cellule où elle interagit avec une enzyme, l'APE1, et stimule son activité réparatrice de l'ADN.

Ce résultat a été obtenu en comparant la réponse à un stress oxydatif de modèles rongeurs capables ou non de produire la PrP, puis *in vitro*, sur des neurones prélevés chez ces modèles. Les chercheurs étudient désormais l'éventuel rôle protecteur de PrP vis-à-vis d'autres types d'agressions de l'ADN (rayons ionisants, certains médicaments utilisés en chimiothérapie...) ou pour d'autres cellules que les neurones. ●

*In Nucleic Acids Research.*  
+ sur [www-dsv.cea.fr/presse](http://www-dsv.cea.fr/presse)

### MALADIE RARE

## Une aide au dépistage de la maladie de Rendu-Osler

**U**ne équipe du CEA-IRTSV a mis au point un test cellulaire pour diagnostiquer la maladie héréditaire de Rendu-Osler, qui affecte 1 personne sur 8000 en France. Celle-ci provoque des saignements du nez, des dilatations artério-veineuses au niveau des muqueuses ou des organes vitaux, comme le poumon, le foie ou le cerveau. Ce test simple

permet de reconnaître les mutations génétiques responsables de la maladie, qui rendent inactives certaines protéines de la paroi des vaisseaux sanguins. Outil de diagnostic chez des sujets à risque, il pourra également aider à la recherche de nouvelles pistes thérapeutiques. ●

*In Human Molecular Genetics.*

### BIOÉNERGIES

## Cocktail enzymatique pour dégradation de biomasse végétale

La majeure partie de la biomasse végétale, non consommable par l'Homme, est composée de lignine et de polysaccharides comme la cellulose. Or certaines bactéries sont capables de dégrader ces débris végétaux, telle *Clostridium phytofermentans* qui les transforme en éthanol et hydrogène. Des chercheurs du Genoscope au CEA-IG se sont intéressés aux enzymes mises en jeu lors de ces transformations. Ils en ont ainsi purifié 56 et précisé le rôle de 32 d'entre elles. La dégradation de la biomasse a pu être modélisée pour cette bactérie, montrant en particulier que la transformation d'un polysaccharide nécessite l'action combinée de plusieurs enzymes. Ces résultats faciliteront l'ingénierie de mélanges enzymatiques pour la production industrielle de biocarburants ou d'autres molécules d'intérêt à partir de débris végétaux. ●

*In PLoS Genetics*  
+ sur [www-dsv.cea.fr/presse](http://www-dsv.cea.fr/presse)

Encore un nouveau débouché pour le bois.

© styl



## TOXICOLOGIE

## Bisphénol A : des substituts suspects

**B**anni des biberons européens depuis 2011, le bisphénol A est aujourd'hui interdit en France dans les contenants alimentaires. Ce composé chimique, constituant jusqu'alors très courant de matières plastiques et de résines, est en effet un **perturbateur endocrinien\***. Qui plus est, il traverse la barrière placentaire et a un impact maximal durant la vie fœtale. L'industrie expérimente ou utilise déjà deux substituts: les bisphénols S et F, qui ne font l'objet d'aucune réglementation et dont la dangerosité n'avait jamais été évaluée à ce jour.

Une équipe du CEA-IRCM a prouvé pour la première fois, en 2012, que le bisphénol A inhibe la production de testostérone à des doses

équivalentes à la concentration moyenne de bisphénol A généralement retrouvée dans le sang, les urines et le liquide amniotique. Or un défaut de la production de testostérone pendant la vie fœtale peut entraîner un défaut de masculinisation et risque de se traduire par une altération de la production spermatique à l'âge adulte.

Reprenant le même type d'étude avec les bisphénols S et F, cette équipe a montré qu'ils réduisent également la production de testostérone des testicules fœtaux! C'est la première fois qu'un effet délétère est démontré pour ces composés chez l'Homme. Les chercheurs plaident donc pour une évaluation urgente de leur impact sanitaire. ●

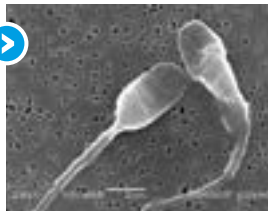
**In Fertility and Sterility.**

+ sur [www-dsv.cea.fr/presse](http://www-dsv.cea.fr/presse)

**\* Perturbateur endocrinien**

Composé altérant le fonctionnement du système hormonal.

Spermatozoïdes observés au microscope électronique à balayage.



© CNRS Pierre Ray

## BIOTECHNOLOGIES

## Des bio-aimants pour le diagnostic par imagerie

**U**ne nouvelle génération d'**agents de contraste\*** est développée par une équipe du CEA-IBEB et du CEA-IBBM à partir de nano-aimants produits naturellement par des bactéries. Non toxique et biocompatible, elle pourra révéler par IRM des biomarqueurs spécifiques de pathologies, permettant ainsi leur diagnostic à des stades très précoces, notamment pour les cancers. Des agents de contraste sont déjà utilisés aujourd'hui en imagerie par IRM pour des examens cliniques, mais certains d'entre eux présentent des risques de toxicité pour le patient.

Ces nouveaux agents de contrastes ont montré une grande efficacité pour diagnostiquer une tumeur cérébrale chez un modèle rongeur. Pour cela, les chercheurs les ont fonctionnalisés en accrochant à leur surface une protéine repé-

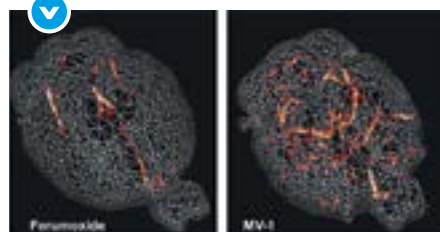
rant spécifiquement les cellules des vaisseaux qui alimentent ces tumeurs. À long terme, ils souhaitent pouvoir ajouter des fonctions supplémentaires à la surface des nano-aimants: par exemple, une molécule thérapeutique qui traiterait spécifiquement la zone malade.

Ces travaux sont financés par l'Agence nationale de la recherche à hauteur de 1,5 million d'euros. ●

**In Advanced Healthcare Materials.**

Comparé à un agent de contraste IRM commercial (à gauche), une dose très faible de nano aimants peut encore être détectée dans le cerveau de souris avec un scanner IRM à très haut champ magnétique de 17,2 T (à droite)

© CEA

**\* Agent de contraste**

En imagerie médicale, composé qui augmente artificiellement le contraste pour visualiser une structure anatomique pathologique naturellement peu ou pas contrastée.

## Brèves de science

## Débloquer la réparation de l'ADN

Un mécanisme moléculaire de résistance à des rayonnements ionisants ou à la sécheresse est découvert par une équipe du CEA-IBEB chez des bactéries du genre *Deinococcus*. Suite à une agression, celui-ci met en jeu une métalloprotéinase qui lève le blocage des gènes de réparation de l'ADN qui est alors fortement endommagé.

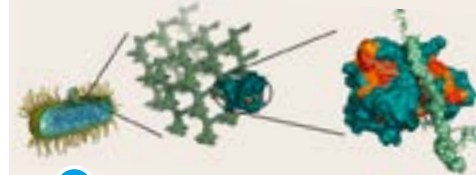
**In Molecular Microbiology.**

## Formation de la paroi bactérienne en 3D

Utilisant la spectroscopie RMN du solide, une équipe de l'IBS est parvenue à obtenir la structure d'une enzyme clé dans la synthèse de la paroi bactérienne et à dévoiler son mode d'action. Elle propose ce résultat modélisé *in silico*, ce qui devrait permettre de trouver des cibles pour de nouveaux antibiotiques.

**In Journal of the American Chemical Society.**

+ sur [www-dsv.cea.fr/presse](http://www-dsv.cea.fr/presse)



Structure de l'enzyme transpeptidase.  
© CEA

## Une protéine qui protège les cancers

Une équipe du CEA-IMETI prouve *in vivo* que la protéine HLA-G protège les cancers contre le système immunitaire. Normalement exprimée dans le placenta pour empêcher l'organisme de la mère de rejeter le fœtus, cette protéine l'est également souvent dans les cancers, mais son rôle n'avait toujours pas été confirmé. HLA-G constitue ainsi une cible potentielle pour de nouvelles thérapies anticancéreuses.

**In Journal of Cancer.**

## Brèves de science

### Apprendre à lire pour mieux voir

L'apprentissage de la lecture modifie l'organisation du cerveau. Une équipe du CEA-I2BM montre, en utilisant l'électro-encéphalographie, qu'elle améliore le codage visuel précoce, de sorte qu'un bon lecteur discrimine mieux et plus rapidement qu'un analphabète deux formes qui se ressemblent.

*In Proceedings of the National Academy of Sciences.*

### Le rôle d'une protéine dans le cancer du sein

Une équipe franco-américaine impliquant le CEA-IRCM a identifié et caractérisé Trim37, une protéine surexprimée dans une forte proportion des cancers du sein. Celle-ci joue un rôle important dans la cancérisation des cellules en inhibant les gènes suppresseurs de tumeurs. Elle pourrait être la cible de nouvelles thérapies médicamenteuses ou géniques.

*In Nature.*

### Le sexe des algues

Les algues brunes possèdent un système chromosomique original de détermination du sexe. Des chercheurs du CEA-IG ont participé à la première exploration détaillée de ce mécanisme. Des régions des chromosomes U et V déterminent leur sexe, ce dernier étant dominant : quel que soit le nombre de chromosomes U, un seul V suffit à obtenir un individu mâle.

*In Current Biology.*



Cellules d'un filament d'algue brune multicellulaire « *Ectocarpus siliculosus* » au microscope.

© CNRS Photothèque/Delphine SCORNET

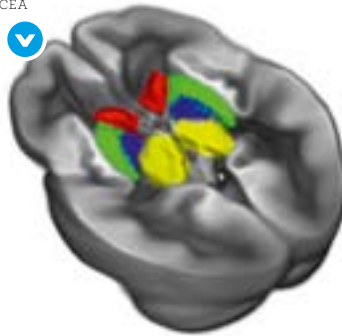
## IMAGERIE / GÉNÉTIQUE

# Des gènes impliqués dans la taille des structures cérébrales

Une étude croisant neuro-imagerie par IRM et analyses génétiques relie des mutations à des variations dans la taille des régions sous-corticales. La taille de ces structures cérébrales profondes se répercuterait sur les performances cognitives, phénomène observé dans la maladie

Localisation de certaines structures sous-corticales sur une coupe de substance grise du cerveau obtenu en IRM. Rouge : noyau caudé, vert : putamen, bleu : pallidum, jaune : thalamus.

© CEA



d'Alzheimer. Cette étude internationale, impliquant 193 laboratoires, a confronté les données de 30 700 individus. Dans ce cadre, les chercheurs du CEA-I2BM ont piloté des analyses IRM sur des cohortes de 2 000 sujets. Les données recueillies ont conduit à des analyses statistiques sans précédent. Résultat : les volumes des structures sous-corticales s'avèrent conditionnés génétiquement. En effet, des variants génétiques ont été reliés à une taille anormalement faible de certaines régions, notamment 5 d'entre eux au putamen, zone impliquée dans la motricité, et un à l'hippocampe, région essentielle pour la mémorisation. L'identification de ces anomalies génétiques constitue une nouvelle étape pour évaluer les facteurs de risque de développer une maladie neurodégénérative, comme celles de Parkinson ou d'Alzheimer. ●

*In Nature.*

## MÉCANISME MOLÉCULAIRE

# Vieillessement cérébral : des cellules souches au ralenti

Les neurones sont créés par division et différenciation des cellules souches neurales. Or cette neurogenèse ralentit avec l'âge. Ce vieillissement cérébral est-il dû à une perte de cellules souches neurales ou à une diminution de leur capacité à proliférer ? Une équipe du CEA-IRCM vient de trancher la question chez un modèle rongeur. Cette étude montre qu'avec l'âge, les populations de cellules souches restent inchangées, mais que le nombre de leurs descendantes par division diminue. La capacité à proliférer de ces cellules est donc en cause, la période entre deux divisions augmentant avec l'âge. Cela se traduit ainsi par une diminution globale de la neurogenèse. Les chercheurs ont également montré l'implication dans ce phénomène de TGF- $\beta$ , un facteur de signalisation cellulaire qui augmente avec l'âge. Ils poursuivent



La neurogenèse diminue avec l'âge.

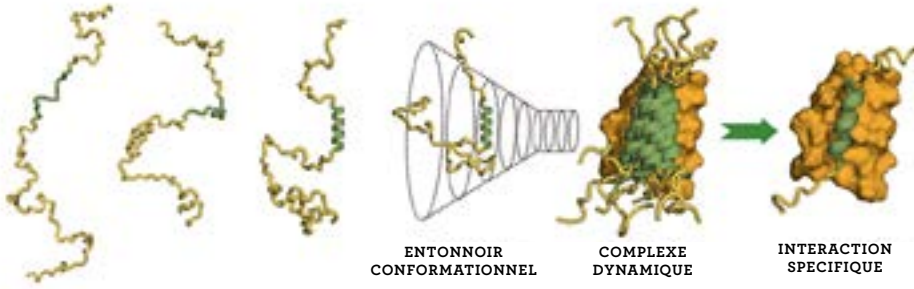
© Fotolia

aujourd'hui l'exploration de ce mécanisme, espérant à terme trouver un levier pour favoriser la neurogenèse chez les patients âgés ou irradiés. ●

*In Stem Cells.*

## BIOLOGIE STRUCTURALE

# Infection virale : une scène filmée en 3D



Une équipe de l'IBS a réalisé la séquence en 3D d'une interaction entre 2 protéines du virus de Sendai (« cousin » du virus de la rougeole) indispensable à sa multiplication. Une performance, puisqu'il s'agit de protéines dites désordonnées, qui changent sans cesse de formes et se laissent très difficilement observer. Les chercheurs ont mis au point une nouvelle technique pour filmer l'interaction de ces deux acteurs très agités, en associant de multiples mesures par spectroscopie RMN<sup>1</sup>. Ils ont observé, en relief et à l'échelle atomique, les différentes étapes du passage de la forme libre et flexible de la première protéine (une nucléoprotéine) jusqu'à son ancrage sur la surface de la seconde (une phosphoprotéine). Outre l'exploit technique, ces résultats sont d'autant plus importants que cette interaction est indispensable à la répllication du virus et donc à l'infection de l'hôte. De manière générale, les protéines désordon-



À l'état libre, la nucléoprotéine (NT, en jaune, avec son site actif en vert) change très rapidement de conformation. Une de ces conformations est privilégiée pour la rencontre avec la phosphoprotéine (PX, en orange). NT reste d'abord dynamique à la surface de PX avant de se fixer au site d'interaction spécifique.

© CEA

nées interviennent dans des mécanismes biologiques essentiels comme la répllication de l'ADN, ainsi que dans de nombreux processus pathologiques. D'où l'intérêt de cette méthode pour mieux comprendre la fonction de ces protéines et éventuellement développer de nouvelles molécules pharmacologiques. ●

In *Journal of the American Chemical Society*.  
➔ sur [www-dsv.cea.fr/presse](http://www-dsv.cea.fr/presse)

<sup>1</sup> Résonance magnétique nucléaire.

## MÉCANISME MOLÉCULAIRE

## Activation d'enzymes bactériennes pour transformer le CO<sub>2</sub>

Une équipe du CEA-IBEB décrit le mécanisme d'activation d'enzymes bactériennes, les formiate déshydrogénases, qui transforment naturellement le CO<sub>2</sub> en acide formique. Ce dernier constitue une forme intéressante de stockage et de transport de l'énergie : il peut être décomposé à la demande en CO<sub>2</sub> et en hydrogène, par exemple pour alimenter une pile à combustible. Ce mécanisme met en jeu une opération délicate : l'apport d'un

atome de soufre, très réactif, sur un co-facteur. Opération qui serait réalisée par une protéine qui jouerait le rôle de tunnel entre le donneur et le receveur de soufre. La compréhension du mécanisme d'activation de ces enzymes est une première étape pour développer des biotechnologies appliquées aux énergies renouvelables. ●

In *Nature Communications*.  
➔ sur [www-dsv.cea.fr/presse](http://www-dsv.cea.fr/presse)

## CERVEAU

## Financement européen

Le Conseil européen de la recherche (*European Research Council, ERC*) décerne une bourse « Starting Grant » à Hugues Nury, chercheur à l'IBS, pour un projet consacré à la structure et au fonctionnement d'une famille de récepteurs neuronaux. Celle-ci, participant à la transmission rapide de l'information entre cellules, constitue un ensemble de cibles potentielles pour des médicaments psychoactifs (benzodiazépines, certains antiémétiques, anesthésiques généraux, etc.). Le projet, dénommé PentaBrain, bénéficie ainsi de 1,5 million d'euros pour cinq ans pour la création d'une équipe et l'acquisition d'équipements qui lui sont dédiés. ●

## CANCER

## Raccourcir les chromosomes pour freiner les tumeurs

Une équipe franco-américaine impliquant le CEA-IRCM tient une nouvelle piste pour stopper la prolifération effrénée des cellules malignes de certains cancers. L'idée consiste à forcer les cellules cancéreuses à vieillir. Comment ? Les extrémités des chromosomes, les télomères, d'une cellule normale vieillissante se raccourcissent à chaque division. En revanche, les cellules malignes font appel à des mécanismes pour allonger leurs télomères et devenir immortelles. Un de ces mécanismes, appelé ALT pour *Alternative Lengthening of Telomeres* (allongement alternatif des télomères), est à l'œuvre dans les glioblastomes (tumeur cérébrale) et les ostéosarcomes (cancer des os). Il repose sur la **recombinaison homologue\***. Les chercheurs ont découvert une des protéines indispensable à ce mécanisme, ainsi qu'un composé chimique qui l'inhibe, VE821. Ils ont montré que VE821 déclenche la mort des cellules malignes et n'a aucun effet sur les cellules saines. Une prochaine étape consistera à tester ces composés *in vivo* sur un modèle rongeur. ●

In *Science*.



**Recombinaison homologue**

Mécanisme fondamental de réparation des lésions de la molécule d'ADN.

# Arrêt sur image

Cette image représente  
une cellule de cancer du  
sein, photographiée par  
un microscope électronique  
à balayage, qui produit  
une image en 3 dimensions.

© National Cancer Institute

## ABONNEMENT GRATUIT

- Sur [www-dsv.cea.fr/ceabio](http://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](mailto:dsv@cea.fr)