

BIOLOGIE CELLULAIRE : ORGANISATION ET FONCTIONS DE LA CELLULE ; PROCESSUS INFECTIEUX ET RELATIONS HOTE/PATHOGENE

Président

Jean-Michel Mesnard

Membres de la section

Monsef Benkirane

Annie Bosch-Savary

Nadine Camougrand

Mounira Chelbi-Alix

Shaynoor Dramsi

Pascale Durbec

Jérôme Estaquier

Yannick Gachet

Ines Gallay

Ludger Johannes

Patricia Krief

Jean-Jacques Lacapère

Jochen Lang

Florence Larminat

Isabelle Mus-Veteau

Gérard Péhau-Arnaudet

Vincent Peyrot

Claudine Pique

Michel Rigoulet

Artur Scherf

La notion que la cellule vivante est l'unité fondamentale de tous les organismes vivants est née de la confrontation des travaux du botaniste Mathias Jacob Schleiden et du zoologiste Théodore Schwann, il y a moins de deux siècles. Au fil des années, les progrès dans la connaissance de la cellule se révélèrent être tributaires des progrès techniques associés au développement de la biologie cellulaire et moléculaire, de la biophysique et de la bioinformatique.

Les équipes rattachées à la section 23 du Comité National travaillent dans ce contexte d'interface pour continuer à accumuler de nouvelles connaissances sur l'organisation structurale et dynamique de la cellule (cytosquelette, membrane et protéines membranaires, trafic cellulaire) ainsi que sur son fonctionnement dans son environnement (signalisation, division cellulaire, mort cellulaire) et sa dérégulation lors d'interaction hôtes-agents infectieux ou impliquée dans le développement de pathologies.

Dans les pages suivantes, nous résumons les résultats récents dans ces différents domaines et décrivons les perspectives liées à la publication de ces nouvelles données.

1 - ORGANISATION DE LA CELLULE

1.1 CYTOSQUELETTE ET MOTEURS

La vision traditionnelle du cytosquelette en tant qu'ossature cellulaire a évolué au cours des dix dernières années vers une perception beaucoup plus dynamique des réseaux de microfilaments qui se polymérisent de novo en réponse aux stimuli extérieurs et s'organisent pour assurer des fonctions cellulaires extrêmement variées comme la migration, la phagocytose, la cytokinèse ou la polarité cellulaire.

- De très nombreux composants de la machinerie contrôlant l'assemblage et l'organisation des filaments d'actine ont été identifiés. Une des avancées majeures dans ce domaine a été l'identification du complexe Arp2/3 et de protéines de la famille des formines qui sont capables de nucléer les filaments d'actine de novo. Les mécanismes moléculaires de la nucléation par ces molécules sont en voie d'être élucidés et les voies de régulation de ces nucléateurs par les GTPases Rho ont été décryptées. Un des domaines ayant permis des avancées rapides dans l'élucidation de ces mécanismes a été l'étude de l'entrée de bactéries dans leurs hôtes cellulaires (*Listeria*, *Shigella*). Un autre aspect concerne la mise en évidence récente du rôle de l'assemblage de l'actine dans les mécanismes de transport intracellulaire faisant intervenir des moteurs

moléculaires de type myosine ou basés directement sur la polymérisation de l'actine à la surface de la vésicule générant la force nécessaire à la propulsion.

- Le déplacement directionnel à longue distance des intermédiaires de transport dans les cellules animales implique les microtubules sur lesquels se déplacent des moteurs moléculaires de type dynéine ou kinésine. L'ensemble des moteurs moléculaires classiques (myosine, kinésine et dynéine) chargés des mouvements intracellulaires ont été identifiés et on a à présent de bonnes notions concernant leur fonction cellulaire. Cependant, selon le type cellulaire, les microtubules sont sujets à de grandes variations architecturales (taille et forme). Ces fluctuations sont la conséquence des propriétés dynamiques uniques aux microtubules. Un des nombreux défis des recherches sur ce thème est la compréhension des mécanismes moléculaires qui contrôlent ces propriétés dynamiques. Ainsi, des travaux récents montrent l'existence de polyméras (XMAP215) qui favorisent la croissance et de dépolyméras (MCAK ou Kip3p) qui réduisent la taille des microtubules. Cependant, des études seront encore nécessaires afin d'explicitier les relations entre ces polyméras et dépolyméras avec des protéines telles que tau et stathmine. Les études de pointe dans ce domaine vont des études biophysiques et de la détermination des structures cristallines des protéines ou des complexes purifiés aux études de la visualisation dynamique des mouvements intracellulaires.

- Au cours des dernières années, il est apparu, contrairement à la croyance générale, que les procaryotes possédaient également des protéines apparentées aux tubulines et à l'actine. Ces protéines sont tout aussi impliquées dans le contrôle de la division cellulaire. Si des domaines protéiques appartenant à la famille des ATPase ont été identifiés, leur rôle dans la division cellulaire reste encore à définir.

Les enjeux du futur seront de déterminer les propriétés de ces différents acteurs filament ou moteur en relation avec la physiologie cellulaire et de proposer des modèles mathématiques afin d'intégrer la notion de cytosquelette dans une approche de biologie des systèmes.

1.2 MEMBRANES, PROTEINES MEMBRANAIRES ET BIOENERGETIQUE

Les protéines membranaires ont un rôle physiologique essentiel et leurs dysfonctionnements sont souvent responsables de maladies importantes, ce qui en fait des modèles d'étude et des cibles thérapeutiques particulièrement intéressantes. Cependant, les informations concernant la fonction et la structure de ces protéines sont limitées par les difficultés rencontrées pour les étudier in vitro en raison de leur faible niveau d'expression naturelle et de leur forte hydrophobicité. Ces difficultés sont accentuées dans le cas des protéines membranaires de mammifère par la nécessité d'exprimer ces protéines en système hétérologue pour en produire suffisamment et pouvoir les caractériser in vitro.

- D'après le site [http : //blanco.biomol.uci.edu/ Membrane_Proteins_xtal.html](http://blanco.biomol.uci.edu/Membrane_Proteins_xtal.html), une croissance exponentielle du nombre de structure 3D de protéines membranaires est observée depuis 2000. 231 structures de protéines membranaires sont à ce jour (Mars 2010) présentes dans la Protein data bank, ce qui reste très faible par rapport au nombre de structures de protéines solubles (environ 42000). Depuis 2005, année de la résolution des structures des deux premières protéines membranaires de mammifère recombinantes, la Calcium ATPase du réticulum sarcoplasmique du muscle de lapin et le canal potassium voltage dépendant, onze nouvelles structures de protéines membranaires de mammifère recombinantes ont été résolues dont quatre de la famille des Récepteurs Couplés aux Protéines G (RCPG) : la rhodopsine, le récepteur $\beta 2$ adrénergique, le récepteur $\beta 1$ adrénergique et le récepteur à l'adénosine. Cette rapide évolution dans la résolution de la structure des protéines membranaires de mammifère est liée aux progrès majeurs réalisés ces dernières années dans différents domaines dont le développement de systèmes d'expression hétérologues de plus en plus efficaces (dans lequel de nombreuses équipes françaises se sont investies malgré le faible facteur d'impact des publications dans ce domaine) et le développement de stratégies de stabilisation des protéines membranaires en solution. En effet, l'instabilité en solution est un des plus gros obstacles à la cristallisation des protéines membranaires. La modification du récepteur $\beta 2$ adrénergique par fusion avec le lysozyme T4 ou l'utilisation de mutants augmentant la stabilité en solution du récepteur $\beta 1$ -adrénergique et du récepteur à l'adénosine a permis la résolution de la structure 3D de ces récepteurs. Enfin, l'utilisation de robot de cristallisation nano-gouttes a permis de réaliser des essais de cristallisation avec des quantités beaucoup plus faibles de protéines. Ceci constitue une grande avancée pour des protéines aussi difficile à produire.

Il sera donc important de continuer à améliorer l'expression hétérologue des protéines membranaires afin de favoriser la production de protéines fonctionnelles en quantité suffisante pour la cristallisation et de développer l'étude des conditions permettant de stabiliser les protéines membranaires en solution comme par exemple la recherche de surfactants moins agressifs que les détergents classiques permettant de maintenir les protéines membranaires stables et actives en solution. En effet, les détergents nécessaires à l'extraction des protéines de la membrane et à leur maintien en solution sont souvent déstabilisants, voire dénaturants, et ceci constitue un obstacle majeur pour la cristallisation. Ceci implique une collaboration forte entre chimistes et biologistes. En outre, les recherches réalisées en RMN des protéines membranaires représentent une alternative à la cristallisation pour les protéines membranaires de petite taille. De plus, la RMN permet de réaliser des études de relations structure-fonction en observant le ligand de la protéine membranaire par exemple. Enfin, il faudrait développer des algorithmes permettant la modélisation de la structure 3D des protéines membranaires dans leur environnement lipidique.

- Les mécanismes mis en jeu lors de l'assemblage des complexes enzymatiques membranaires des bactéries et des organites intracellulaires des eucaryotes restent

partiellement décrits et les régulations indispensables à ces assemblages sont peu comprises. Le cas des complexes bactériens est plus simple (un seul génome et pas de mécanisme d'import des protéines). Chez les eucaryotes, ces complexes sont le plus souvent constitués d'un assemblage de protéines dont certaines sont codées par le génome nucléaire et d'autres par le génome de l'organite (mitochondrie et plastes). Leur biogenèse nécessite l'assistance de nombreuses protéines auxiliaires intervenant à tous les niveaux du processus : expression des protéines codées par le génome de l'organite, expression et import des protéines codées par les gènes nucléaires, insertion des différentes sous-unités dans la membrane, parfois addition des groupements prosthétiques, assemblage des holoenzymes dans un ordre rigoureux et selon une stoechiométrie précise, intervention de processus de maturation conduisant souvent à la formation de dimère et parfois à la mise en place de super-complexes. Tous ces événements sont strictement contrôlés et régulés par une signalisation assurant la coordination noyau/organite. Il convient pour chaque complexe d'identifier les différents facteurs impliqués, de caractériser la dynamique de leur relation et de comprendre les mécanismes d'action mis en jeu aux « checkpoints » de régulation.

- Des observations assez anciennes, comme l'inhibition de la respiration par l'activation de la glycolyse (l'effet Warburg), par exemple, mise en évidence dans de nombreux types cellulaires, n'ont pas trouvé d'explication satisfaisante même si certains facteurs de régulation ont pu être identifiés. Ceci souligne la nécessité de développer une approche plus globale du métabolisme, de mettre en œuvre une étude des biosystèmes articulant modélisation, quantification rigoureuse des différents flux métaboliques et analyse des métabolites par des méthodes très sensibles (spectrométrie de masse) afin d'obtenir une description précise de la dynamique de ces systèmes complexes.

Dans le cas des mécanismes moléculaires des couplages énergétiques dans les voies de photosynthèse et d'oxydation phosphorylante (procaryotes et eucaryotes), la connaissance précise des structures d'un nombre de plus en plus conséquent de transducteurs d'énergie devrait conduire à la compréhension du fonctionnement, au niveau moléculaire, de ces convertisseurs d'énergie. Le développement de ce champ de recherche qui n'est pas nouveau dans le domaine de la bioénergétique est cependant indispensable à la constitution d'un corpus de connaissances nécessaires à l'étude des différentes activités de la cellule.

2 - DEVENIR CELLULAIRE, SIGNALISATION ET DYNAMIQUE INTRACELLULAIRE

2.1 SIGNALISATION ET TRANSPORT MEMBRANAIRE

La cellule est constituée d'organites et de sous-domaines membranaires dont la description statique initiale a été reconsidérée au cours des dernières années grâce à la multiplication de traceurs membranaires fluorescents et

au développement de techniques d'imagerie de la cellule vivante. La vision actuelle, nettement moins stricte, est celle de sous-domaines reliés par un continuum très mobile d'intermédiaires. L'organisation en sous-domaines est probablement une propriété intrinsèque des membranes biologiques, entraînant des particularités fonctionnelles, comme l'illustre l'hétérogénéité latérale, induisant la présence de microdomaines membranaires riches en cholestérol et sphingolipides où sont concentrées les protéines de signalisation. Il est probable que certaines étapes du transport, par exemple dans l'appareil de Golgi, s'effectuent également par transformation progressive de la composition membranaire.

A cette nouvelle vision gradualiste des compartiments s'ajoute une composante cinétique intracellulaire, révélée par l'observation de mouvements directionnels extrêmement dynamiques de compartiments le long des réseaux d'actine et de microtubules, assurés par des moteurs moléculaires. Le noyau et la mitochondrie, deux compartiments contenant l'ADN de la cellule eucaryote, ont depuis longtemps focalisé une attention particulière. Le lien entre structures sub-nucléaires et expression génique est un champ de recherche très actif. La mitochondrie, organite très dynamique principalement connu comme source majeure de production d'ATP et siège de nombreuses réactions métaboliques, intervient également dans les processus de mort cellulaire apoptotique. Un défi de la biologie cellulaire est de comprendre comment les processus fondamentaux tels que la division cellulaire, et plus généralement, l'engagement d'une cellule vers différents devenir, corrélerent aux changements de nature et de dynamique des compartiments cellulaires. Cette connaissance aura un impact majeur sur la compréhension globale du développement de pathologies, qu'il s'agisse de cancérogenèse, de dégénérescence ou d'infections.

La division cellulaire, indissociable du vivant, est un processus au cours duquel se posent des problèmes de plusieurs ordres : comment transmettre chromosomes, organites et sous-compartiments membranaires à chaque cellule fille, comment générer les forces permettant la partition des composants et la cytokinèse, comment assurer la chronologie correcte des différentes étapes, quels mécanismes et quelles cibles sont affectés au cours de la sénescence.

Plus généralement, le « déterminisme cellulaire » décrit l'impact des changements d'environnement sur la physiologie cellulaire et son adaptation. Cela concerne l'ensemble des modifications cellulaires engendrées par les couples récepteur/ligand (signalisation cellulaire), ainsi que l'impact des changements de milieu (éléments nutritifs, pH, oxygène, etc.). Au cours des dernières années, l'analyse des voies de signalisation a mis en évidence de nouvelles modifications post-traductionnelles des protéines, telles que l'ubiquitination et sumoylation, et l'importance des compartiments sous-membranaires, dans les réponses cellulaires englobées par la notion de déterminisme (croissance, prolifération, différenciation, adhérence, motilité, apoptose, autophagie).

Ces problématiques sont abordées dans une vingtaine d'unités dépendant de la section 23, au sein desquelles

plusieurs équipes couvrent divers aspects de la dynamique des compartiments à la signalisation, modelant le devenir de la cellule.

- Un des fondements de l'évolution des procaryotes vers la cellule eucaryote est la ségrégation des fonctions cellulaires au sein d'organites distincts. Cette compartimentation, qui répond à une complexification et une optimisation des fonctions cellulaires, est accompagnée par la mise en place de systèmes de communication entre les différents compartiments assurant ainsi la coordination des fonctions cellulaires. Les échanges entre compartiments dépendent de signaux cytotologiques mais également de transferts directs de composants à travers des mécanismes de transports vésiculaires et non-vésiculaires.

- Le trafic vésiculaire procède par bourgeonnement d'une vésicule, son transport et finalement sa fusion avec la membrane cible. Nous avons une vue générale de ce mécanisme et le plupart de facteurs protidiques nécessaires ont été identifiés : les protéines de manteaux, les complexes SNARE, les complexes d'arrimage, les petites GTPases Rab, et les moteurs moléculaires. Cependant, nous comprenons à l'heure actuelle encore très peu comment ceci se déroule du point de vue mécanistique au niveau de la membrane même. Un premier pas dans cette direction a été accompli par la reconstitution du processus de fusion membranaire sur liposomes. Sur la base de ces expériences, un modèle mécanique a pu être proposé selon lequel les protéines SNARE jouent un rôle central dans le rapprochement membranaire à des distances fusionnelles. Cette activité clé, dont le mécanisme exacte reste à préciser, est accompagnée par les facteurs d'accostage et les protéines Rab qui augmentent largement l'efficacité du processus. Cette démarche de reconstitution sur des liposomes de plus en plus sophistiqués, est maintenant plus largement utilisée et offre la perspective d'une complexification croissante des systèmes expérimentaux, rendant ainsi possible la compréhension moléculaire des mécanismes réactionnels. Vu l'hétérogénéité dynamique des membranes et ses constituants, ces approches doivent être combinées avec les techniques de points d'investigations cellulaires afin de fournir une description réelle et physiologique.

- C'est au niveau de la déformation membranaire que les progrès ont été les plus spectaculaires dernièrement. La structure en forme de corbeille que forment spontanément les molécules clathrine a largement dominé la pensée dans ce domaine en suggérant que la membrane est passivement déformée en se collant sur la face concave de la lattice de clathrine. Cette notion est aujourd'hui mise en question et il semble possible que d'autres forces telles que la courbure spontanée soient les véritables inducteurs de la déformation membranaires conduisant à la formation des bourgeons. Les systèmes de reconstitution permettront d'aborder cette question clé de façon rigoureuse.

Un autre développement spectaculaire qui prend sa source dans les tests de reconstitution met la courbure membranaire au cœur de l'orchestration des réactions biochimiques qui conduisent à la formation et au

détachement du bourgeon membranaire. Des expériences visionnaires ont mis en évidence la dépendance du rayon de courbure membranaire de certains processus de liaison sur membrane ou de l'activité catalytique d'enzymes associées aux membranes. Il en découle un modèle très stimulant de contrôle mécano-chimique de la cascade de réaction qui conduit à la formation du bourgeon et de son processing par scission. Des boucles d'amplification réciproque entre courbure et activité enzymatique permettraient de créer des séquences réactionnelles très robustes.

Un autre nouveau concept est corrélatif à ce modèle de couplage mécano-chimique : le confinement réactionnelle par le détachement du bourgeon (ou budding). Alors que le bourgeon est colinéaire avec la membrane donneuse ce qui permet un échange de protéines et lipides membranaire par diffusion, le détachement annule cette possibilité, ce qui conduit à l'accumulation ou à la déplétion d'espèces moléculaires (protéines ou lipides) lorsqu'une activité enzymatique est confinée dans l'espace limité du bourgeon détaché. Ce concept explique probablement le détachement des différents manteaux vésiculaires (ou uncoating), notamment la clathrine et le manteau COPI.

- Les tests de reconstitution ont aussi commencé à jeter une lumière nouvelle sur l'hypothèse raft. La formulation initiale partait du postulat de l'existence à l'état d'équilibre thermodynamique d'assemblages lipidiques auxquels s'associeraient les protéines membranaires selon leur affinité relative pour un environnement lipidique de type raft (glycosphingolipides et cholestérol). Malgré tous les efforts consentis, ce type de structures membranaires n'a pas pu être mis en évidence dans les membranes biologiques et des résultats récents suggèrent fortement qu'elles doivent être induites pour être porteur d'informations biologiques. De façon remarquable et inattendue, il s'avère que les membranes biologiques de différentes origines sont proches d'une limite de phase à la température physiologique, de manière tel qu'un inducteur approprié peut les faire basculer d'un état homogène à un état de formation de nanodomains. Ce type de réorganisation induite à l'échelle mésoscopique génère des forces aux interfaces entre domaines (tension de ligne) et il se pose alors la question de savoir comment la cellule s'en sert pour assurer des fonctions biologiques. Trois grandes orientations se dégagent actuellement : la génération de courbure membranaire, la scission membranaire, le tri des lipides.

- En dehors des méthodes modernes de reconstitution, d'autres avancés techniques ont accéléré la vitesse de découverte en biologie membranaire. La microscopie photonique repousse constamment les limites de résolution temporelle et spatiale, et des techniques de tomographie en microscopie électronique offrent une vue ultrastructurale en trois dimensions des échantillons biologiques. Des approches systémiques, notamment le crible siRNA à l'échelle génomique, tardent à percer dans le domaine du trafic et de sa régulation. Cependant, le potentiel est énorme.

2.2 DIVISION CELLULAIRE

La division cellulaire a toujours fasciné les biologistes. L'identification des CDK (cyclin-dependent kinases) a grandement bénéficié des études réalisées sur des systèmes biologiques modèles tels que les levures. Une étape décisive a été de montrer que ces mécanismes sont conservés au cours de l'évolution. Différents processus contribuent au contrôle du cycle cellulaire : la phosphorylation de protéines cibles par les CDK, la régulation périodique des cyclines responsables de l'activation périodique des CDK, les modifications (phosphorylation, SUMOylation, ubiquitination, etc.) des CDK et le caractère processif de ces mécanismes biochimiques.

La fidélité de la réplication du génome ou l'intégrité de l'ADN sont contrôlés avant la mitose afin de préserver la stabilité génomique. La fidélité de la division cellulaire repose sur la mise en place du fuseau mitotique, sur l'attachement correct des chromosomes au fuseau et sur la coordination précise entre la ségrégation des chromosomes et le début de la cytokinèse. Les travaux des dernières années ont révélé que trois mécanismes de surveillance régulaient ces processus. Les points de contrôle (checkpoints) mitotiques sont capables de ralentir le cycle cellulaire en réponse à un défaut d'attachement des chromosomes à l'appareil mitotique. Les voies biochimiques initialement identifiées dans les levures se sont révélées là encore hautement conservées chez les eucaryotes supérieurs. Après l'activation des points de contrôle mitotiques, les défauts d'attachements des chromosomes peuvent alors être corrigés grâce à l'activation d'une kinase qui influence la dynamique des microtubules. La présence de chromosomes retardataires ou perdus sur l'appareil mitotique semble réguler négativement l'entrée de la cellule en cytokinèse. La révolution technologique apportée par l'utilisation de protéines fluorescentes en microscopie (GFP, RFP, etc.), les caméras à haute sensibilité et la génétique puissante (siRNA ou délétions) ont conduit à des avancées spectaculaires dans le domaine de la dynamique des chromosomes en mitose comme en méiose.

Le fuseau mitotique est organisé en ses deux pôles par un complexe protéique appelé centrosome ou SPB (Spindle Pole Body) chez les levures. La duplication anarchique de ces pôles semble désorganiser la mitose, phénomène observé dans de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses. Des avancées majeures de la recherche fondamentale sur le modèle levure ont démontré que des protéines associées aux centrosomes sont non seulement responsables de l'initiation de la cytokinèse mais aussi importantes pour la correction des défauts d'attachement des chromosomes à l'appareil mitotique.

Notre compréhension de l'organisation des chromosomes a progressé de façon importante par la cartographie des cohésines et des condensines, deux complexes protéiques responsables respectivement de la cohésion des chromatides sœurs et de la compaction de la chromatine en mitose. L'étape ultime du cycle cellulaire est la cytokinèse (conduisant à la séparation physique des cellules filles). Les mécanismes biochimiques découverts grâce aux approches de protéomique et des combinatoires de génétique et microscopie dans divers

modèles cellulaires révèlent encore une universalité des processus biologiques. Si de nombreux mécanismes ont été découverts dans le cycle cellulaire, le challenge des prochaines années portera sur plusieurs points : découvrir le ou les mécanismes qui conduisent les cellules à sortir du cycle (quiescence), caractériser les fonctions de certaines protéines pour maintenir cet état et étudier l'imbrication et la coordination des différentes étapes du cycle cellulaire entre elles.

2.3 MORT CELLULAIRE

Les cellules peuvent être amenées à croître, à proliférer, à se différencier, à subir des stress ou des changements d'environnement, à entrer dans un état de quiescence ou bien à mourir. Des travaux assez divers portant sur l'autophagie, l'apoptose, la nécrose ou la prolifération cellulaire ont fait émerger l'hypothèse que la mitochondrie, chez les eucaryotes non-photosynthétiques, jouait un rôle central dans l'ensemble des processus gouvernant le devenir cellulaire et faisait souvent partie prenante de leur signalisation. La membrane interne de cet organite sert de récepteur/émetteur pour de nombreux facteurs actifs qui, en relation avec l'état énergétique, semblent déterminer l'évolution des fonctions cellulaires. De plus, de nombreuses pathologies résultent d'un dysfonctionnement mitochondrial. Les disciplines et les modèles d'étude (levure, *C. elegans*, drosophile, cellules de mammifères) développés dans notre section placent certaines des unités au cœur de cette problématique.

- La mort cellulaire programmée (MCP) est un mécanisme de suicide cellulaire, qui joue un rôle essentiel dans de très nombreux processus physiologiques comme pathologiques, et revêt un caractère universel de la biologie dans la mesure où vie et mort sont indissociables. L'importance de ce phénomène en biologie fut reconnue en 2002 par l'attribution du prix Nobel de Médecine aux Docteurs Sydney Brenner, John Sulston, et Robert Horvitz. L'apoptose représente un des phénotypes majeurs de cette MCP et pas moins de 175000 références ont été publiées sur ce thème. Les processus d'apoptose se caractérisent par l'expression constitutive de ces effecteurs. Ainsi, les cellules de l'organisme expriment des cystéines protéases (caspases) nécessaires à l'induction de la phase effectrice de l'apoptose. La survie de chaque cellule dépend, en permanence, de la réception de signaux paracrines induisant l'expression de gènes qui permettent de bloquer l'induction de celle-ci. Des anomalies dans l'expression de gènes, l'émission ou la transduction de signaux qui entraînent une diminution du seuil de déclenchement de ces programmes, induisent des phénomènes de MCP prématurée qui peuvent aboutir à des pathologies caractérisées par la déplétion de certaines populations cellulaires ou à des anomalies de leur fonctionnement. Inversement des anomalies dans l'expression de gènes, l'émission ou la transduction de signaux qui entraînent une augmentation du seuil de déclenchement de ces programmes, induisent des phénomènes de survie aberrante qui peuvent aboutir à des pathologies caractérisées par des hyperplasies, des cancers, ou des réponses auto-immunes. Plusieurs laboratoires supportés par le CNRS ont été pionniers dans cette thématique, notamment dans

l'implication des molécules Fas et son ligand dans l'apoptose lymphocytaire T, et dans le rôle de la mitochondrie dans ces processus (organite qui par ailleurs est essentiel à la cellule pour lui fournir l'énergie nécessaire à son fonctionnement). Le cytochrome c est la clef de voûte de ces processus, impliqué non seulement dans la voie biochimique de l'apoptose mais également dans le fonctionnement de la chaîne respiratoire. L'implication de la mitochondrie dans ces mécanismes a été ensuite étudiée par plusieurs groupes. D'autres chercheurs se sont aussi intéressés aux aspects moléculaires de ce processus : insertion et activation des protéines dans la membrane externe de la mitochondrie, interactions diverses entre les différents acteurs et régulation.

- L'induction ou le blocage des programmes de mort cellulaire constituent également un déterminant important dans les interactions hôtes/pathogènes, et jouent un rôle essentiel dans la persistance ou l'élimination des agents infectieux et dans le développement ou non d'une pathologie. Ainsi, des travaux pionniers menés par des équipes du CNRS ont permis de mettre en évidence l'implication de ce processus dans le cadre de l'infection par le VIH-1. De plus, la survenue de cette apoptose prédit l'évolution vers la maladie et est associée au caractère pathogène de cette infection comme le suggèrent les études d'infections lentivirales pathogènes et non pathogènes chez les Primates Non Humains. De plus, il a été montré que la mort des macrophages qui est induite par les infections bactériennes s'accompagne de l'activation de la caspase 1 et participe dans l'induction d'une inflammation. Cette MCP est dénommée Pyroptosis.

En outre, un dysfonctionnement de ces processus d'apoptose participe également dans le développement de cancers. En particulier, un nouveau concept a émergé au cours de ces dernières années qui est basé sur l'observation que certains récepteurs exprimés en l'absence de leurs ligands sont capables d'induire la mort de ces cellules. L'anoikis qui est également un processus apoptotique est induit par une interaction inappropriée ou inadéquate des intégrines à leurs substrats et les cellules se détachent de la matrice extracellulaire.

- Bien que l'apoptose représente un des mécanismes majeurs de la mort cellulaire programmée, l'observation que des inhibiteurs à large spectre des caspases n'inhibent pas toujours celle-ci a conduit plusieurs équipes à étudier d'autres processus biochimiques comme l'autophagie. L'autophagie décrite dès les années 60 n'a véritablement émergé que très récemment. Ainsi, les 4/5èmes des quelques 5000 publications ont été réalisées au cours des 7 dernières années. L'autophagie est un processus plus complexe puisqu'il peut être assimilé à une mort programmée de type II ou bien jouer un rôle dans la survie des cellules. C'est un programme cellulaire dévolu au catabolisme/recyclage de structures sénescents ou pas allant des macromolécules solubles jusqu'aux organites entiers. Elle se caractérise soit par la formation d'autophagosomes qui séquestrent de façon non spécifique du matériel cytoplasmique avant de l'adresser vers la voie de dégradation lysosomale ou vacuolaire, soit par invagination de la membrane des lysosomes ou des vacuoles qui capturent des portions de cytoplasme. Des études sur la levure ont permis d'identifier

les acteurs moléculaires qui régissent les différentes étapes de ce processus (protéines Atgs). Le processus d'autophagie étant conservé chez tous les eucaryotes, la plupart des acteurs ont également été identifiés chez les eucaryotes supérieurs ainsi que les voies de signalisation. Stimulée en cas de stress, en particulier lors de carences nutritives, l'autophagie est d'abord un programme de survie permettant à la cellule d'adapter son métabolisme aux conditions externes. Si l'activité catabolique devient incompatible avec la survie, elle induit la mort cellulaire de façon autonome ou bien associée aux processus apoptotiques.

- A côté de cette autophagie non sélective, il a été récemment mis en évidence des processus plus spécifiques ciblant une organelle comme par exemple le peroxysome (pexophagie), le noyau (nucléophagie), les ribosomes (ribophagie) et la mitochondrie (mitophagie). A l'heure actuelle, certains travaux sur les cellules de mammifères se focalisent sur le rôle des protéines Parkin, Pink1, Nix, Bnip3 et Bnip3L dans l'élimination des mitochondries par autophagie. Comme pour l'apoptose, l'autophagie peut aussi jouer un rôle important dans l'élimination des cellules infectées. D'autres travaux ont montré que les agents pathogènes inhibent la machinerie d'autophagie de manière à faciliter leurs répliquations et leurs disséminations. Ainsi, certaines protéines codées par les agents infectieux sont capables d'inhiber les molécules impliquées dans la machinerie d'autophagie conduisant à une autophagie abortive. Ce mécanisme pourrait représenter un mécanisme d'échappement du virus à la réponse immunitaire de son hôte.

- Un nouveau concept a récemment été proposé selon lequel, indépendamment de changement éventuel quant à l'expression des membres pro- et anti-apoptotiques de la famille de Bcl-2, la morphogénèse mitochondriale participerait dans la susceptibilité à l'apoptose. En effet, la morphologie du réseau mitochondrial dépend de l'équilibre entre les événements de fission et de fusion qui implique d'une part Fis1 et Drp1 (Dynamine-related protein 1) et d'autre part les protéines appelées Mitofusines (Mfn1 et Mfn2) et OPA1 (Optic atrophy type 1). En particulier, il a été montré qu'OPA1 joue un rôle essentiel sur le modelage des crêtes. Ainsi, un déficit d'expression ou une altération d'expression suite à l'activation de protéases conduit à une sensibilité accrue aux signaux apoptotiques, et favorise la sortie du cytochrome c. Enfin, bien que les caspases soient inhibées, il a été montré que certains stimuli de mort conduisent à une dégradation de la mitochondrie. Ce nouveau concept dénommé Mitoptose pourrait représenter un nouveau mécanisme essentiel dans la régulation de la vie et la mort des cellules.

- Les lysosomes sont des organites cellulaires qui participent à la digestion des protéines et organites endommagés, et sont en interface étroite avec les processus d'autophagie, en formant à partir des autophagosomes des autophagolysosomes. La libération des protéases dans le cytosol suite à la perméabilisation des lysosomes conduit à l'activation de l'apoptose. Ainsi, en particulier les cathepsines activent les protéines pro-apoptotiques Bax et Bid, impliquées dans la perméabilisation mitochondriale. En outre, il a été montré que cette perméabilisation des

lysosomes peut engendrer une mort cellulaire indépendante des caspases. Il faut noter que dès les années 60, les lysosomes ont été au centre des interactions hôtes/pathogènes. Dans ce contexte, il a été rapporté récemment que le VIH-1 entraîne une perméabilisation des lysosomes ce qui pourrait rendre compte de la mort des lymphocytes T CD4+ qui s'apparente à une mort par nécrose. Récemment, il a été mis en évidence que la nécrose comme l'apoptose pourrait être contrôlée génétiquement et a été dénommée Nécroptosis.

Ainsi, la recherche sur les mécanismes de mort cellulaire programmée revêt un intérêt général et crucial quant à la compréhension de nombreux mécanismes physiologiques et pathologiques. En effet, comprendre comment ces différents mécanismes qui participent dans la survenue ou l'inhibition de ces programmes de mort est d'un intérêt majeur non seulement pour la biologie du vivant mais intéresse tout autant l'industrie. A ce jour le nombre de « leads » identifiés reste faible, l'industrie anglo-saxonne étant leader dans ce domaine. L'émergence de cette thématique depuis une vingtaine d'années a permis à plusieurs groupes du CNRS de se positionner comme leaders internationaux dans ce domaine. Toutefois, du fait de sa jeunesse, une des faiblesses est peut être le faible nombre d'unités actuelles réellement structurées autour de cette thématique, celles-ci travaillant essentiellement aujourd'hui sur la cancérologie. En dépit de l'intérêt de cette thématique pour de très nombreuses équipes, et du fait qu'il existe des programmes soutenus par l'ANR, et les associations contre le Cancer, ces financements sont toutefois insuffisants pour permettre le développement harmonieux de nouvelles équipes dans d'autres domaines. Il est important de souligner que le CNRS soutient un réseau sous la forme d'un GDR qui regroupe les différents acteurs travaillant autour de la mitochondrie. Cependant, il est également important d'attirer l'attention sur le fait que nombreux de ces acteurs partiront à la retraite d'ici les 5 prochaines années et pourraient contribuer à un déclin de cette thématique au sein du CNRS.

2.4 SIGNALISATION ET PATHOLOGIES

Des défauts dans les voies de signalisation contribuent à de très nombreuses pathologies dont de nombreux cancers. La connaissance de l'ensemble des voies de signalisation, l'identification de leurs composants protéiques et de leurs interactions sont essentielles à la compréhension du rôle de ces voies de signalisation dans les différentes pathologies et à l'élaboration de thérapies ciblées et efficaces.

De plus en plus de pathologies apparaissent liées à des dysfonctionnements des cellules souches dans différents tissus et organes chez l'adulte. C'est le cas des maladies neurodégénératives mais aussi d'un nombre croissant de cancers. Certaines maladies neurodégénératives présentent des défauts dans la capacité des cellules souches à régénérer les cellules neuronales. La présence de cellules souches cancéreuses a été mise en évidence dans de nombreux cancers. Ces cellules possèdent les propriétés des cellules souches de résistance aux drogues

et d'auto-renouvellement et seraient responsables des métastases. L'auto-renouvellement des cellules souches met en jeu des voies de signalisation comme Notch, Wnt ou encore Hedgehog. L'inhibition de la voie Hedgehog serait impliquée dans des défauts de régénération des cellules neuronales, alors que les cellules souches cancéreuses présentent une activation aberrante de cette voie. Il apparaît donc très important de soutenir les recherches sur ces voies de signalisation impliquées dans l'auto-renouvellement des cellules souches chez l'adulte d'un point de vue fondamental mais aussi pour leur potentiel impact thérapeutique.

Un autre aspect émerge depuis quelques années dans l'étude des cancers : le rôle des canaux ioniques et leur régulation. Il y a de plus en plus d'études montrant une modification d'expression des canaux ioniques dans les tumeurs. Il est intéressant de comprendre l'implication des canaux ioniques dans les cancers car ce sont des cibles potentielles pour lesquelles la pharmacologie est souvent assez bien établie.

3 – PATHOGENES ET RELATIONS HOTES-PATHOGENES

3.1 VIRUS

L'étude des virus reste d'un intérêt majeur à la fois à cause des conséquences que peuvent avoir les infections virales sur la population mondiale mais aussi grâce leur utilisation comme outils dans l'étude des mécanismes fondamentaux qui régulent le fonctionnement d'une cellule. En outre, au fil des années, le nombre de virus caractérisés ne fait que croître. Par exemple, en 2007, deux nouveaux polyomavirus humains, KIPyV et WUPyV, ont été caractérisés par criblage moléculaire dans des échantillons du tractus respiratoire de malades.

- En 2008, un autre polyovirus, le MCPyV, a été associé au carcinome à cellules de Merkel (MCC) qui est un cancer neuroectodermique de la peau, rare mais agressif. Ce cancer est mortel dans un tiers des cas, son incidence augmentant partout dans le monde. Il survient en priorité chez les personnes âgées immunodéprimées. En outre, son incidence a augmenté de 11 fois parmi les malades du SIDA. Le génome viral est intégré dans l'ADN des cellules tumorales à différents sites chromosomiques ce qui suggère que l'infection virale précède l'expansion clonale des cellules tumorales. Des mutations empêchent la réplication du génome viral. Ainsi, la réplication ou l'intégration modifiées du MCPyV pourrait être impliquée dans le développement du phénotype malin. Le MCC pourrait être le premier exemple d'un cancer de l'homme dû à un polyomavirus.

- Le génome des polyomavirus est capable de coder pour des miARN viraux (vmiARN) qui permettraient au virus de contourner la réponse immunitaire en régulant négativement l'expression des gènes précoces. Un vmiARN, le miR-M1, a été récemment caractérisé chez MCPyV. Ce vmiARN est différent des autres vmiARN déjà

identifiés chez les autres polyovirus. Cependant aucun lien direct entre son expression et le pouvoir oncogénique du MCPyV n'a été établi. Par contre, l'implication de vmiRNA dans des cancers induits par d'autres oncovirus a été proposée. Ainsi, l'expression de vmiRNA dans le carcinome gastrique associé au virus Epstein-Barr suggère qu'effectivement les miRNA produits par l'EBV pourraient jouer un rôle dans le développement de ce cancer. Des vmiRNA ont été identifiés chez tous les herpesvirus. Ainsi, l'expression des gènes cellulaires a été analysée dans des cellules exprimant les vmiRNA du KSHV, un herpesvirus associé au sarcoma de Kaposi. Cette étude a permis de démontrer que dans ces conditions le niveau d'expression de la thrombospondine (protéine impliquée dans l'adhésion cellulaire, la migration et l'angiogenèse) était diminué de 10 fois. Ainsi les oncovirus coderaient pour des vmiRNA capables de perturber l'expression de protéines impliquées dans le contrôle de la prolifération cellulaire. Cependant, l'inverse est aussi vrai c'est-à-dire que des protéines virales pourraient aussi déréguler l'expression de miRNA cellulaires impliqués dans la transformation cellulaire. Des travaux récents confirment l'implication de l'oncoprotéine Tax de HTLV-1 (virus impliqué dans le développement de la leucémie T chez l'adulte) dans la dérégulation de l'expression de miRNA cellulaires dans des lymphocytes T transformés par HTLV-1. Ces dernières années, de nombreux travaux ont donc confirmé l'importance de la production de vmiRNA ou l'implication de la régulation de l'expression de miRNA cellulaires par des protéines virales. Les liens directs entre ces effets et la transformation cellulaire induite par les oncovirus restent cependant encore à démontrer. Il serait utile de réaliser des études dans ce sens sur des cellules de patients ayant développé des tumeurs induites par ces oncovirus.

- La description d'infections humaines par le XMRV donne un autre exemple spectaculaire de passage inter-espèce et de la potentialité de l'émergence de nouvelles pathologies. Ce nouveau virus est phylogénétiquement lié aux gammarétrovirus xénotropes de souris retrouvés chez des souris sauvages et dans certaines lignées murines de laboratoire. Sa présence chez l'homme a été d'abord décrite en 2006 dans des échantillons de tumeurs de la prostate, sans toutefois établir de corrélation entre le virus et la pathologie. En 2009, une autre publication a décrit la forte prévalence de ce virus dans une cohorte de patients américains atteints du syndrome de fatigue chronique. Les données actuelles sont encore très conflictuelles, le virus n'ayant été retrouvé dans aucune cohorte de patients européens atteints de cette même pathologie ou bien de tumeurs de la prostate. La présence de XMRV chez l'homme n'en reste pas moins remarquable et il reste à comprendre comment ce virus de souris a pu passer chez l'homme. Il est également primordial d'éclaircir son pouvoir pathogène, la possibilité qu'un rétrovirus de souris donne lieu à des pathologies chez l'homme pouvant évidemment avoir des conséquences importantes en terme de santé publique.

- La compréhension des mécanismes permettant au virus de pénétrer dans les cellules hôtes fait toujours l'objet d'intenses recherches. On sait maintenant que la transmission de cellule à cellule est nettement plus efficace

que la transmission virus/cellule. Les modalités de formation de la synapse virologique, décrite notamment pour le VIH-1 et le HTLV-1, ont été bien définies au niveau moléculaire et cellulaire mais il reste à comprendre comment les particules virales sont ciblées dans cette structure. D'autres modes de transmission par voie cellule-cellule ont également été décrits comme l'induction par les virus de prolongement membranaires (filopodes, cytonèmes, nanotubes) aux niveaux des cellules productrices (rétrovirus, virus de la dengue, Ebola, papillomavirus, virus de la vaccine). Un autre mécanisme décrit chez HTLV-1 début 2010 montre la formation de biofilms, réseaux de protéines intracellulaires et de protéines de la matrice extracellulaire permettant la concentration et le passage à la cellule cible des particules. Il est primordial de comprendre l'ensemble de ces modalités de transmission cellule-cellule en termes de connaissances des relations pathogènes/cellule mais également afin d'optimiser l'efficacité des stratégies visant à bloquer la propagation des virus dans l'organisme.

- Une question centrale reste de comprendre comment certains virus sont capables de contourner les défenses antivirales de la cellule et de l'organisme hôte. La réponse immunitaire innée de l'hôte, incluant la production de l'interféron, représente la première ligne de défense contre les virus. Plusieurs facteurs de transcription, produits de gènes suppresseurs de tumeur et produits de gènes induits par l'interféron sont modifiés. Il apparaît de plus en plus que certains virus utilisent l'ubiquitination et les modifications post-traductionnelles qui lui sont apparentés (la SUMOylation, l'ISGylation ou encore la Neddylation qui représentent respectivement l'ajout des peptides SUMO1 ou SUMO2/3, ISG15 ou Nedd8) pour cibler des protéines cellulaires qui jouent un rôle dans la défense antivirale. Ces modifications entraînent souvent une modulation de leur stabilité, de leur fonction et/ou leur localisation. Ce type de modification intervient aussi dans des processus biologiques aussi divers que la dégradation des protéines, l'endocytose, la transcription, la polarité cellulaire, le maintien de l'intégrité du génome, l'autophagie, l'apoptose, le cycle cellulaire, le transport nucléoplasmique ou encore la réponse à l'infection virale.

- La pandémie de grippe A/H1N1 (2009-2010) a fait beaucoup parler d'elle et a été l'occasion de revenir sur le passé et d'établir un constat des questions encore irrésolues. Comment estimer la propagation d'une infection, sa dangerosité, comment prédire sa survenue ? Les pandémies de 1889, 1919, 1957 et 1968 ont été à une toute autre échelle. Celle de 1919 aurait causé entre 20 et 40 millions de morts soit 2% des sujets infectés (case-fatality ratio). L'infection se fait en phases : la dynamique de la propagation virale (le pic au jour 2) et la dynamique de la maladie (5 jours). L'outil d'étude de ces dynamiques, le VKSD (virus shedding and symptoms dynamics) vient de la pharmacologie. Les outils actuels de lutte sont les vaccins, les antiviraux, la mise en quarantaine et la fermeture des espaces publics comme les écoles. Les modèles de l'infection se fondent sur des hypothèses et des scénarios très sensibles aux hypothèses initiales. Les inconnues restent les paramètres de l'histoire naturelle (temps de génération, période d'incubation, nombre de reproduction, intervalle intergénérationnel, taux d'attaque), les routes de transmission (taille des gouttelettes, aérosol, contact

avec les fomites, facteur trop peu étudié) et l'immunité de troupeau. Des données sont cependant acquises : le port du masque est inutile pour limiter l'infection, l'enfant est plus infectable et plus infectieux, il existe des terrains particuliers (femmes enceintes, personnes obèses, personnes vulnérables). Il faut supposer que 30 à 50% des 20-64 ans et 95% des plus de 64 ans sont immunisés. La sévérité de l'infection est très différente d'une pandémie à l'autre. Paradoxalement les questions qui restent pendantes portent sur le rôle des anticorps dans l'effet vaccinal, le rôle de l'adjuvant, et la définition d'une vague infectieuse.

- De nombreux virologistes leaders dans leur domaine et reconnus internationalement sont rattachés à la section 23. Citons à ce sujet l'attribution du Prix Nobel de médecine 2008 à Luc Montagnier qui a été dans la passé un chercheur rattaché à la section.

3.2 PARASITES

La parasitologie a une tradition de longue date en France. Par exemple, les pathogènes responsables du paludisme et de la toxoplasmose ont été découverts par des scientifiques français (Laveran en 1880 et Nicolle en 1908). De nos jours, la recherche se focalise principalement sur les pathogènes protozoaires qui infectent les humains vivant dans les pays tropicaux et subtropicaux. Parmi ceux-ci, les parasites comme Plasmodium, les trypanosomes africains et les leishmanies qui sont responsables de morbidité et de mort (le paludisme à lui seul tue chaque année deux millions d'enfants en Afrique). D'autres espèces de parasites protozoaires étudiés dans des laboratoires du CNRS, comme Babesia et Theileria, sont la cause de pertes importantes parmi les animaux domestiques. De nombreux parasites sont transmis par des insectes vecteurs et pourtant la recherche sur le phénomène vecteur des interactions hôtes-parasites a été relativement négligée en France en comparaison avec d'autres pays.

Beaucoup de parasites représentent encore une menace importante pour les humains malgré le développement de traitements anti-parasitaires. La résistance à beaucoup de médicaments s'étend désormais à toutes les régions endémiques de la maladie. Des efforts intensifs pour développer des vaccins efficaces contre les parasites affectant les humains ont été mis en oeuvre, mais ceci demeure un défi majeur. Il y a un besoin évident de soutenir le développement de nouvelles stratégies d'intervention en promouvant la recherche fondamentale. Bien que les parasites atténués puissent générer une bonne protection contre la maladie, leur utilisation se limite aux animaux domestiques.

La recherche sur les parasites continue à occuper une place prépondérante sur les programmes pour la recherche des principaux financeurs internationaux: la Commission européenne, le NIH, la fondation Gates et le Wellcome Trust. Les génomes des principaux parasites affectant les humains ont été séquencés et la recherche sur ces parasites est maintenant dans la phase post-génomique. Ceci a accéléré la compréhension des mécanismes spécifiques d'adaptation des parasites à leur

hôte. Comprendre la biologie des pathogènes et de leurs interactions avec l'hôte permettra d'appréhender leurs stratégies pour proliférer au sein de l'hôte et échapper à la destruction par son système immunitaire. Même si les parasites sont loin d'être des organismes modèles, les résultats de la recherche fondamentale sur ce sujet sont fréquemment publiés dans des revues scientifiques à fort impact, un fait qui continue à attirer des scientifiques de talent vers ce domaine de recherche.

Le CNRS est très présent au niveau international dans les domaines de la parasitologie cellulaire, biochimique et moléculaire avec plusieurs laboratoires reconnus internationalement et même considérés comme des leaders dans leur domaine comme le démontrent les résultats ci-dessous.

- Le développement du cycle de vie et les mécanismes spécifiques de défense envers le système immunitaire de l'hôte chez les parasites apicomplexes Plasmodium et Toxoplasma sont contrôlés par des facteurs épigénétiques. Un certain nombre de caractéristiques uniques qui n'avaient jamais été mises en évidence auparavant chez les modèles eucaryotes a été découvert, ce qui présente un intérêt majeur dans le domaine de l'épigénétique chez les parasites. Plusieurs cibles thérapeutiques potentielles des mécanismes épigénétiques ont été identifiées chez ces parasites, ce qui représente des lignes de recherche futures prometteuses au sein de ces laboratoires.

- La motilité cellulaire et l'invasion cellulaire par les parasites sont deux étapes clés d'une infection chronique réussie chez l'hôte. Les espèces Trypanosomes et Leishmanies utilisent un flagelle pour se mouvoir, une organelle qui, d'un point de vue structural, s'apparente aux flagelles ou cils chez l'hôte humain. Les flagelles chez ces parasites ont une fonction clé dans la survie du parasite, leur servant à se nourrir via la poche du flagelle et la division cellulaire. Le mécanisme qui contrôle l'ouverture de la poche du flagelle a représenté le Saint Graal dans le domaine et deux molécules clé qui forment cette structure circulaire autour du flagelle ont été identifiées.

- Le processus d'invasion des cellules hôtes par Toxoplasma est un thème de recherche très compétitif que plusieurs groupes étudient en se focalisant sur le moteur actin-myosin moléculaire qui commande ce processus. Ce moteur nécessite une «jonction mobile» entre l'extrémité apicale du parasite et la membrane cellulaire de l'hôte afin de l'envahir. Ceci est une étape importante vers une meilleure compréhension des débuts du processus d'invasion. Le rôle de la cellule hôte dans l'invasion a longtemps été inconnu. Un rapport récent a montré que Toxoplasma provoque la formation d'une structure actine en forme d'anneau dans la cellule hôte à la jonction parasite-cellule, participant à l'entrée du parasite.

- Les infections parasitaires peuvent causer de graves maladies ou la mort, surtout chez les jeunes enfants ou les femmes enceintes infectés par les parasites du paludisme. Un modèle ex vivo de rate humaine isolée et perfusée a révélé une rétention inattendue de plusieurs érythrocytes recelant des étapes précoces de parasites. Ce modèle ex vivo ouvre de nouvelles voies pour l'étude

du rôle de la rate dans le contrôle de la densité parasitaire chez l'humain. Une molécule d'adhésion de surface qui dirige le parasite vers le placenta a été identifiée. Des domaines recombinants de la molécule d'adhésion induisent des anticorps bloquant l'adhésion, un résultat prometteur qui pourrait déboucher sur le développement d'un vaccin protégeant les femmes enceintes des formes sévères du paludisme.

- La trypanosomiase humaine reste très présente en Afrique centrale et de l'Ouest et est mortelle si elle n'est pas traitée. Un modèle murin a été développé en utilisant des isolats de patients infectés et qui apparemment imite la progression de la morbidité par *Trypanosoma brucei gambiense*. Ce modèle murin pourrait révéler des facteurs de virulence spécifiques aux parasites et qui contrôlent l'aboutissement de la maladie chez l'humain.

- L'élucidation de la régulation de la biosynthèse de métabolites cruciaux pourrait aider à l'élaboration de nouveaux médicaments anti-parasitaires. Une nouvelle approche pharmacologique antipaludique basée sur l'inhibition du métabolisme plasmodial phospho-lipidique a été mise au point. Le médicament imite la structure cholinique et inhibe la biosynthèse phosphatidylcholine *de novo*. Il est maintenant en phase de tests cliniques en collaboration avec Sanofi.

Un autre domaine de recherche intéressant est le trafic vésiculaire Rab-médié dans la maturation des parasites intracellulaires du paludisme. La protéine Rab11A a une fonction importante dans la genèse de la membrane plasmique de la cellule fille au cours de la division cellulaire. Les protéines Rab sont évidemment des cibles thérapeutiques antipaludiques intéressantes.

Le CNRS héberge de nombreux groupes internationalement reconnus, dont certains sont leaders dans le domaine de la parasitologie. Un autre point à souligner est l'existence d'un lien solide avec l'industrie pharmaceutique française pour le développement de médicaments et de vaccins. Plusieurs laboratoires font de la recherche fondamentale de haut profil et en parallèle s'investissent considérablement dans de nouvelles stratégies d'intervention. Ces relations entre la recherche et l'industrie doivent être encouragées car elles peuvent constituer une plate-forme forte pour accroître la recherche translationnelle sur les principaux pathogènes de l'homme.

Cependant, le départ à la retraite de plusieurs parasitologues renommés dans les cinq prochaines années va créer des vides dans divers laboratoires du CNRS. La direction du CNRS pourrait mettre en place des programmes attractifs et des mesures de soutien pour les jeunes chefs de groupes en parasitologie. Actuellement il manque également une conférence annuelle ou semestrielle qui fédérerait la communauté française de parasitologie et permettrait de lancer des programmes de recherche communs (CNRS, ANR, etc.).

3.3 AUTRES AGENTS INFECTIEUX

Les bactéries appartiennent à la division des procaryotes (c'est à dire sans noyau) et constituent une

des trois grandes familles de l'arbre du vivant (avec les archées et les eucaryotes). De nature unicellulaire à réplique autonome, les bactéries constituent des organismes modèles simples permettant l'étude des grands processus cellulaires et moléculaires de la vie. Malgré de grandes avancées en matière de prévention et de traitement, les maladies infectieuses représentent un problème majeur de santé publique en particulier avec l'apparition récente de souches multi-résistantes aux antibiotiques. Face à ces nouveaux défis, la recherche internationale en microbiologie connaît une seconde jeunesse. Ainsi la microbiologie cellulaire constitue une nouvelle discipline mêlant étroitement la bactériologie, la biochimie, la biologie structurale et la biologie cellulaire. Il s'agit de comprendre comment les microorganismes communiquent entre eux, avec leur environnement ou avec leurs cellules hôtes. Ces processus de communication sont à la base de la pathogénie bactérienne ou du commensalisme. La découverte de nouveaux médicaments passera par la compréhension moléculaire de ce dialogue hôtes-pathogènes. Ce dialogue est par ailleurs à la base de fonctions physiologiques essentielles jusqu'alors négligées, tels que le rôle fondamental de la flore bactérienne dans le développement et le maintien de l'homéostasie intestinale ou le développement du système immunitaire de l'hôte. Enfin, les bactéries suscitent un grand espoir dans le domaine de l'environnement et à l'interface chimie-biologie, allant de la dépollution des sols, en passant par les bactéries utilisées comme détecteurs de mines anti-personnel jusqu'à la recherche de nouvelles réactions enzymatiques (séquençage de très nombreux génomes de bactéries non cultivables au laboratoire) pour la synthèse de polymères innovants.

Les maladies à prion et d'Alzheimer sont des désordres neurodégénératifs caractérisés respectivement par une maturation anormale de la protéine prion (PrPC) et du peptide amyloïde-béta (Abeta). Ces oligomères s'attaquent à la mémoire en perturbant les jonctions synaptiques entre neurones. Les récepteurs spécifiques médiant ces effets étaient inconnus. Des données très récentes montrent que la PrPC joue un rôle critique dans la maladie d'Alzheimer. En effet elle interagit et inhibe la bêta-secretase, BACE1, l'étape enzymatique limitante dans la production de Abeta. Fait remarquable, la PrPC a été identifiée comme étant le récepteur des oligomères Abeta.

4 – RECOMMANDATIONS

Comme déjà mentionné dans ce rapport, de nombreux chercheurs et équipes du CNRS évalués par la section 23 sont reconnus internationalement dans les différents domaines en biologie développés ci-dessus. Cependant, cette reconnaissance risque d'être menacée si les soutiens financiers continuent à être sélectifs non pas sur des critères d'excellence mais sur des critères finalisés. Il faut faire attention à ne pas confondre la recherche en sciences biologiques avec la recherche biomédicale. Ne financer que des travaux sur des agents infectieux pathogènes pour l'Homme ou sur des mécanismes cellulaires soi-disant liés au développement de maladies comme le cancer risque d'avoir des conséquences préjudiciables à long terme. Une recherche

fondamentale de qualité est nécessaire et indispensable à une recherche appliquée fructueuse. La mise au point de thérapies anti-SIDA (molécules anti-transcriptase inverse ou anti-protéase à acide aspartique) développées grâce à des découvertes dues à des recherches réalisées sur des rétrovirus aviaires et murins en est un exemple frappant. On pourrait multiplier les exemples dans d'autres domaines comme les études sur la division cellulaire chez la levure pour mieux comprendre la perturbation des mécanismes cellulaires impliqués dans le développement de certains cancers. La majorité des chercheurs et des équipes de la section 23 s'inquiète de cette évolution malgré un discours qui se veut rassurant de la part du CNRS.

En outre, concentrer des financements très importants sur un petit nombre de chercheurs, souvent regroupés dans des grands centres de recherche, ne semble pas non plus une bonne stratégie pour garantir le renouvellement des idées et des découvertes. La recherche fondamentale a en permanence besoin de nouvelles idées et de nouvelles façons de penser car sa mission est avant tout de découvrir des mécanismes biologiques encore inconnus. Or, l'inconnu n'est pas prévisible et est souvent le fruit du hasard. La recherche a besoin de se tromper pour trouver la bonne voie et de temps pour confirmer ou non ses découvertes. Il est important que le CNRS retrouve les moyens qui lui permettront dans le domaine des sciences biologiques d'affirmer ses orientations et de soutenir ses équipes afin que ces dernières puissent rester des références internationales dans leur domaine.