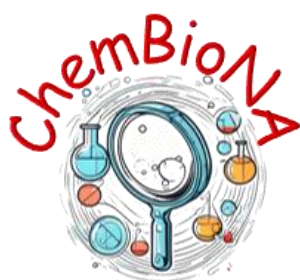


Congrès ChemBioNA

6-7 mai 2025



Réseau de Chimie-Biologie
en Nouvelle-Aquitaine

LIVRET

Inhibition d'interactions protéine-protéine : de séquences peptidiques naturelles à la conception d'inhibiteurs covalents ciblant les histidines

Guillaume Compain

*Université de Bordeaux, UMR 5248, Institut de Chimie et Biologie des Membranes et Nano-objets (CBMN),
1 All. Geoffroy Saint-Hilaire, 33600 Pessac, France
g.compain@iecb.u-bordeaux.fr, <https://http://www.cbmn.u-bordeaux.fr/>*

La plupart des inhibiteurs de protéines ciblent des enzymes ou des récepteurs et se logent dans une cavité plus ou moins profonde de la protéine, tels que des enzymes ou des récepteurs membranaires. La forme de la molécule inhibitrice ainsi que la nature et la position des groupements chimiques lui permettent de créer des interactions spécifiques avec sa cible. Néanmoins, la très grande majorité des protéines exercent leurs fonctions biologiques via des interactions protéine-protéine et nombre d'entre-elles ne comportent pas de poche connue dans lesquelles des peptides molécules peuvent se lier facilement.^[1] L'utilisation de peptides pour interagir avec ces cibles protéiques est donc devenue une alternative prometteuse en raison de leur structure étendue couvrant une plus large surface d'interaction améliorant ainsi l'affinité et la spécificité.^[2] Par ailleurs, au cours de la dernière décennie, le développement d'inhibiteurs covalents ciblés (TCIs) s'est accéléré avec la mise sur le marché de plusieurs molécules, notamment pour le traitement de cancers et d'infections virales.^[3] Les avantages peuvent inclure une efficacité, une sélectivité et une durée d'action améliorées. Néanmoins, les inhibiteurs peptidiques dotés d'un mode d'action covalent représentent des modalités très peu exploitées pour cibler les interfaces étendues d'interaction protéine-protéine. De plus, les TCIs ciblent généralement la cystéine, l'acide aminé le plus réactif, mais la faible abondance des cystéines libres constitue une limitation au développement de TCIs. En revanche, il n'existe qu'une poignée d'études sur l'utilisation de l'histidine comme nucléophile, son intérêt potentiel dans la découverte de médicaments a donc été largement inexploré.^[4]

Ces dernières années, notre consortium a développé de puissants inhibiteurs peptidiques de l'anneau β ,^[5] un composant essentiel du réplisome bactérien qui a été identifié comme une cible pertinente pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens. De plus, nous avons exploré la possibilité de cibler coalement une histidine localisée au voisinage du site d'interaction.^[6] Dans ce travail, nous avons anticipé que la plus faible réactivité de l'histidine, en comparaison avec la cystéine, pourrait être contrebalancée par le positionnement précis d'ogives électrophiles à proximité du groupe imidazole de l'histidine grâce à une conception basée sur la structure.

[1] J. N. Spradlin, E. Zhang, D. K. Nomura, *Acc. Chem. Res.* 2021, 54, 1801–1813.

[2] X. Ran, J. E. Gestwicki, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2018, 44, 75–86.

[3] L. Boike, N. J. Henning, D. K. Nomura, *Nat. Rev. Drug Discov.* 2022, 21, 881.

[4] J. Che, L. H. Jones, *RSC Med. Chem.* 2022, 13, 1121–1126.

[5] a) C. André, F. Veillard, P. Wolff, A.-M. Lobstein, G. Compain, C. Monsarrat, J.-M. Reichhart, C. Noûs, D. Y. Burnouf, G. Guichard et al., *RSC Chem. Biol.* 2020, 1, 137–147 ; b) C. Monsarrat, G. Compain, C. André, S. Engilberge, I. Martiel, V. Oliéric, P. Wolff, K. Brillet, M. Landolfo, C. Silva da Veiga et al., *J. Med. Chem.* 2021, 64, 17063–17078.

[6] G. Compain, C. Monsarrat, J. Blagojevic, K. Brillet, P. Dumas, P. Hammann, L. Kuhn, I. Martiel, S. Engilberge, V. Oliéric et al., *JACS Au* 2024, 4, 432–440.

L'émergence d'une alternative thérapeutique anticancéreuse: la thérapie photodynamique

Bertrand LIAGRE

*Université de Limoges, UMR 5248, Institut de Chimie et Biologie des Membranes et Nano-objets (CBMN),
Faculté de pharmacie, 2 rue du Dr Marcland 87025 Limoges Cedex – France
bertrand.liagre@unilim.fr, <https://www.unilim.fr/labcis/>*

Le cancer est un enjeu de santé publique mondial, et les modalités thérapeutiques conventionnelles actuelles sont souvent invasives, résistantes et induisent des effets secondaires toxiques sur les tissus sains. C'est pourquoi de nouvelles approches thérapeutiques ciblées se développent. Dans cette optique, on trouve la thérapie photodynamique (PDT) qui présente plusieurs avantages évidents par rapport aux modalités classiques, telles qu'une invasivité minimale, une grande sélectivité vis-à-vis des tissus cancéreux et moins d'effets secondaires. La PDT est une alternative thérapeutique approuvée cliniquement et actuellement utilisée pour plusieurs tumeurs solides, déclenchant la mort cellulaire par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Cependant, la nature hydrophobe de la plupart des photosensibilisateurs (PS) utilisés, tels que les chlorines, limite l'efficacité globale de la PDT. Pour surmonter cette limitation, l'utilisation de nanovecteurs semble être une approche puissante. Dans cette perspective, nous avons récemment développé des nanoparticules organiques fluorescentes (FONP) solubles dans l'eau et biocompatibles, fonctionnalisées avec de la purpurine-18 (Pp-18) et son dérivé, la chlorine p6 (Cp6), en tant que nouveaux agents de PDT. L'objectif de cette étude a été de déterminer in vitro le potentiel phototoxique des FONPs[Cp6] dans le traitement des modèles cellulaires 2D et 3D de lignées de cancer colorectal (CCR). Nos résultats montrent des effets phototoxiques importants des FONPs[Cp6], médiés par la génération des ERO intracellulaires dans les cellules de CCR HCT116 et HT-29. En outre après la PDT, nous avons prouvé que les FONP[Cp6] induisent l'apoptose par la voie mitochondriale intrinsèque, mais également l'autophagie. Notre travail démontre l'activité photodynamique de ces nanoparticules, ce qui en fait des candidats prometteurs pour le traitement du CCR.

Mots-clés : Cancer, Thérapie Photodynamique, Purpurine-18, Nanovecteurs, FONPs, Apoptose, Autophagie

Induced-volatolomics: a new approach to uncovering biological processes

Pauline POINOT

*University of Poitiers, UMR CNRS 7285, Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP),
4 rue Michel-Brunet, TSA 51106, 86073 Poitiers cedex 9, France
Pauline.poinot@univ-poitiers.fr, <https://ic2mp.labo.univ-poitiers.fr/>*

The volatolome corresponds to the whole volatile organic compounds (VOCs) produced by the metabolic activity of any biological system. A change in the volatolome can be linked to the development of a disease and its study, i.e. volatolomics, is a simple, fast, accessible, and safe diagnostic approach. However, the identification of endogenous volatile markers specific to a pathology is limited due to the high interindividual variability and the disparities between laboratories in sample preparation and analysis.

In this context, our multidisciplinary team has proposed a new paradigm, called Induced Volatolomics^[1], to explore biological processes in real time.

This strategy relies on the use of off-on VOC-based probes that can be converted into exogenous volatile compounds through a metabolic stimulus. The targeted enzymes can be linked to specific physiopathological processes as cancer, viral or bacterial infection, or inflammation processes.

In this presentation, the concept of off-on VOC-based probes will be presented. Their value for the in vivo diagnosis of tumors will be described. Also, their use to survey and improve the efficacy of novel chemotherapeutic agents will be demonstrated^[2]. Then, a new concept relying on cocktails of VOC-based probes will be introduced. These novel chemobiological tools showed great advantages for the evaluation of multiple enzymes dysregulation in cancer or viral infection^[3,4]. Pilot results implying these cocktails will be presented.

[1] F. Djago, J. Lange, P. Poinot, *Nature Reviews Chemistry* **2021**, *5*, 183–196.

[2] J. Lange, B. Eddhif, M. Tarighi, T. Garandeau, E. Péraudeau, J. Clarhaut, B. Renoux, S. Papot, P. Poinot, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 17563–17566.

[3] R. Châtre, E. Blochouse, R. Eid, F. Djago, J. Lange, M. Tarighi, B. Renoux, J. Sobilo, A. Le Pape, J. Clarhaut, C. Geffroy, I. Opalinski, W. Tuo, S. Papot, P. Poinot, *Chem. Sci.* **2023**, *14*, 4697–4703.

[4] E. Blochouse, R. Eid, N. Araji, W. Tuo, R. Châtre, S. Papot, N. Lévêque, R. Thuillier, P. Poinot, *Anal. Chem.* **2023**, *95*, 11572–11577.

Nanoparticules multifonctionnelles à base d'oligosaccharides d'origine naturelle : De la synthèse chimique à l'évaluation biologique.

Hugo Groult

*Université de La Rochelle, UMR 7266, Littoral ENVironnement et Sociétés (LIENSs)
2, rue Olympe de Gouges | 17000 La Rochelle - France
hugo.groult@univ-lr.fr, <https://lienss.univ-larochelle.fr/Groult-Hugo>*

Intelligence Artificielle : passé, présent, futur(s)

Baptiste Pesquet

*Université de Bordeaux, UMR 5248, École Nationale Supérieure de Cognitique (ENSC),
109 Av. Roul, 33400 Talence, France
baptiste.pesquet@ensc.fr, <http://www.ensc.bordeaux-inp.fr/>*

L'Intelligence Artificielle a envahi nos vies professionnelle et personnelle, et semble être sur une trajectoire de progrès sans limite. En l'absence de boule de cristal pour prédire son avenir, la meilleure option pour tenter d'y voir plus clair est sans doute de commencer par se plonger dans son histoire. Dans un second temps, l'étude du fonctionnement de ses technologies emblématiques, notamment les grands modèles de langage (LLM), permettra d'apprécier plus finement ses succès actuels. Enfin, nous tenterons d'esquisser des pistes pour les futurs possibles de l'IA, en évoquant les risques et les opportunités qu'elle présente pour la communauté scientifique et la société en général.

A new webserver for interpreting artificial intelligence in structural biology

Patrice Gouet

*Université de Lyon, UMR 5086, Microbiologie moléculaire et biochimie structurale (MMSB),
7 passage du Vercors.69367 LYON Cedex 07, France
patrice.gouet@ibcp.fr, <https://mmsb.cnrs.fr/>*

3D modelling programs based on artificial intelligence (AI) have revolutionised structural biology, often predicting protein structures with an unprecedented level of confidence. However, these structures remain models and it is always interesting to compare the results of different predictors (AlphaFold3, RoseTTAFold2, ESMFold...) and not to limit the choice to the model generated with the best confidence score; it can also be crucial to introduce experimental data, such as known intermolecular regions, in the selection of the best model. To address these issues, we have created a web server called "FoldScript" (<https://foldscript.ibcp.fr>). It can be used to synthesise the multi-model information generated by the AI in 1D, 2D and 3D. We have tested this web software on numerous viral protein complexes studied by our team, for which low and high confidence scores have been obtained. We show that while the AI can provide relevant answers, a critical view remains crucial. Indeed, the "best" solution proposed by the AI is not always the true "best" solution.

DNA nanostructure based on an aptaswitch/aptakiss interaction

Cléo Chidaïne ^{1, @} , Laurent Azema ^{2, @} , Jeanne Leblond Chain ^{3, @}

1 : Régulations Naturelles et Artificielles

ARNA laboratory, INSERM U1212, UMR CNRS 5320

2 : ARNA

ARNA laboratory, INSERM U1212, UMR CNRS 5320

3 : Régulations Naturelles et Artificielles

Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : U1212

Thanks to its programmability, stability and accessible synthesis, DNA has been used as a biomaterial to detect molecules, treat diseases and produce nano-objects. Aptamers are single-stranded DNA (or RNA) molecules able to bind specific targets with high affinity and specificity. Among them, aptaswitches are dynamic aptamers which conformation change can enable a second interaction with a partner called aptakiss, through a well-described kissing interaction. Moreover, the kissing interaction can be controlled by the presence or the absence of the aptaswitch target. Indeed, “positive” aptaswitch will engage a kissing complex with the aptakiss in the presence of its target; whereas, for “negative” aptaswitch, the kissing complex will be displaced upon target addition. In this work, we introduced such kissing interactions into DNA nanostructures. Depending on the presence of a trigger, our DNA nanostructure adopt different conformations or form different supramolecular assemblies. In a first step, we have designed Holliday Junction-Like structures using 4 DNA helixes assembled in a cross. Each cross extremity was flanked with aptaswitches and aptakisses. Two aptaswitches responsive to adenosine were used: the “positive” aptaswitch realizes a kissing interaction in the presence of adenosine and the “negative” realizes kissing only in the absence of adenosine. We demonstrated that the supramolecular assembly is conditioned to the presence of adenosine, through native electrophoresis. In a second step, we have made a conditional nanomachine based on this aptaswitch/aptakiss interaction and we demonstrated its operation by native electrophoresis and FRET. As a perspective, this type of DNA nanostructure based on aptaswitches could be used to control the conformation of 2D or 3D assemblies, or to control the movements of nanomachines. In conclusion, this project aims to provide a proof of concept for the use of kissing aptaswitches in nanotechnology applications.

***O-Labeled singlet oxygen and substituted cyclopentadienes: winning combination for versatile syntheses of [*O₂]oxylipins**

Gabriel Coulombe ^{1,@}, Philippe Hermange ^{1,@}, Camille Oger ^{2,@}

1 : Institut des Sciences Moléculaires (ISM)

Université de Bordeaux (Bordeaux, France)

Bâtiment A 12 351 cours de la Libération 33405 TALENCE CEDEX - France

2: Institut des Biomolécules Max Mousseron [Pôle Chimie Balard] (IBMM)

Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, Université de Montpellier, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR5247

Faculté de Pharmacie - 15 Av. Charles Flahault - BP 14 491 - 34093 Montpellier Cedex 5 - France

Oxylipins are oxidized metabolites of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) with various biological applications. For example, 4-F4t-neuroprostane is a racemic non-enzymatic metabolite that was proven to play a key role in the stabilization of ryanodine receptors implicated in arrhythmias and diaphragm disorders.[1] However, whereas its deuterated analogue has been synthesized as analytic standard, there is no *O-labeled analogue described, despite the great benefits offered by such compounds. For example, while the 17O isotope, with a 5/2 spin, is directly suitable for NMR studies or may be detected *in vitro/in vivo* by NMR/MRI techniques, 18O/17O can be used for their isotopic differences within the natural non-labeled NeuroP in mass spectrometry studies to monitor its *in vivo* metabolism.[2] The standard strategy for *O-labelling, i.e. isotopic exchange on the carboxylic group, could be envisioned, but it has typically low incorporation, it is reversible and the labeling can be lost during metabolization (β oxidations). Moreover, it does not correspond to the O atoms introduced by dioxygen oxidation in the biosynthetic pathways. On the contrary, using a method recently developed in the laboratory,[3] we will investigate a new strategy that will be devoid of all these problems by enabling the dual labeling of the cyclopentenediol core by cycloaddition of 1O₂ with cyclopentadienyls and *in situ* reduction.

[1] Roy, J.; Oger, C.; Thireau, J.; Roussel, J.; Mercier-Touzot, O.; Faure, D.; Pinot, E.; Farah, C.; Taber, D. F.; Cristol, J.-P.; Lee, J. C. Y.; Lacampagne, A.; Galano, J.-M., Durand, T.; Le Guennec, J.-Y. *Free Radic. Biol. Med.*, **2015**, *86*, 269.

[2] Pickett, W. C.; Murphy, R. C. *Anal. Biochem.*, **1981**, *111*, 115.

[3] Doussot, A.; Bakaï, M.-F.; Fouquet, E.; Hermange, P. *Org. Lett.* **2023**, *25*, 4661-4665.

Bio-inspired NHC-organocatalyzed reactions in aqueous droplets: New Insights to Chemistry of Life

Kevin Peyraud-Vicré ^{1,2,@}, [Charline Dechamps](#) ^{1,@}, Nicolas Martin ^{2,@}, Valérie Desvergnès ^{1,@}

1 : ARNA

ARNA laboratory, INSERM U1212, UMR CNRS 5320

2 : Centre de Recherche Paul Pascal

Université de Bordeaux, Institut de Chimie - CNRS Chimie, Centre National de la Recherche Scientifique

The formation of C-C bonds in the absence of enzymes is particularly critical to the prebiotic synthesis of biomolecules and yet remains highly challenging in aqueous environments. Recently, bio-inspired N-Heterocyclic carbenes (NHCs), rationally designed as synthetic analogues of enzyme cofactors, have demonstrated the ability to catalyze C-C bond formation in water.[1] Our objective is to further explore such catalytic reaction within model protocells known as “coacervates”. [2] Coacervates are micrometer-sized droplets formed through liquid liquid phase separation of oppositely charged polyions in water. These membrane-free droplets spontaneously uptake biomolecules via partitioning and thus support various enzyme reactions. Additionally, due to their lower polarity compared to water, coacervates can accumulate organic molecules[3] and promote non-enzymatic reactions, such as polycondensation.[4] In this work, we are developing novel bio-inspired and chemically active coacervate systems to serve as an unique reaction medium, enhancing the efficiency and selectivity of model organocatalyzed C-C bond forming reactions. Overall, by illustrating how coacervates promote and guide non-enzymatic catalytic reactions, our findings provide new insights into the chemical emergence of complex molecules within simple protocells.

Development of a new biomaterial to combat antibiotic resistance: focus on oligonucleotide/apatite interactions

Flavie Gaudin ¹ , Christophe Drouet ² , Christele Combes ² , Philippe Barthélémy ¹ , Tina Kauss ¹ , Clémentine Aubry ^{1, *, @}

1 : Acides Nucléiques : Régulations Naturelle et Artificielle (ARNA)

Université de Bordeaux, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Institut de Chimie - CNRS Chimie, Centre National de la Recherche Scientifique

146 rue Léo Saignat 33076 Bordeaux cedex - France

2 : Centre interuniversitaire de recherche et d'ingénierie des matériaux (CIRIMAT)

Université Toulouse III - Paul Sabatier, Institut de Chimie - CNRS Chimie, Centre National de la Recherche Scientifique, Institut National Polytechnique (Toulouse)

CIRIMAT, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, Toulouse INP, CNRS, Université de Toulouse, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9 - France ; CIRIMAT, Toulouse INP, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, CNRS, Université de Toulouse, 4 allée Emile Monso - BP44362, 31030 Toulouse cedex 4 - France - France

***** : Auteur correspondant

Antibiotic resistance is a major challenge in medicine, especially for post bone reconstruction surgery infections. A solution to combat this resistance is to combine therapeutic oligonucleotides to antibiotics and calcium phosphate-based bone substitutes – specifically biomimetic apatites. First of all, it is important to understand the nature of the interactions between oligonucleotides and apatite, known for its good adsorption properties. This work presents the study of the adsorption of a model lipid oligonucleotide on apatite.

In order to carry out this study, it was first necessary to optimize the experimental parameters of the tests. A typical adsorption test is divided into two phases: the contact of the compounds of interest under agitation for a defined time, then the separation by centrifugation of the solid and liquid phases and their respective study. For each phase of the test, the fixed parameters have been optimized: speed of agitation, placement on the stirring plate, quantities used, centrifugation parameters.

Once the test parameters were optimized, kinetic studies were carried out and adsorption isotherms were plotted, giving information on the different adsorption energy sites. These preliminary studies demonstrate an efficient adsorption of the model oligonucleotide on the apatite.

Chemically modified oligonucleotides will further be studied in order to have a global understanding of the mechanisms of interaction oligonucleotides/apatite, and the release mechanisms investigated.

Design, synthèse et évaluation biologique de nouveaux scaffolds via des réactions métallo-catalysées pour la préparation de nouveaux pharmacophores bioactifs

Lindita Lari ^{1,2,@}, Jean Guillon ¹, Vanessa Desplat ², Sandra Albenque-Rubio ¹, Solène Savrimoutou ¹, Stéphane Moreau ¹

1 : Acides Nucléiques : Régulations Naturelle et Artificielle

Université de Bordeaux, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Institut de Chimie - CNRS Chimie, Centre National de la Recherche Scientifique

2 : BoRdeaux Institute in onCology

Université de Bordeaux, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

Dans le domaine de la chimie médicinale, la conception et la synthèse de scaffolds originaux *via* des réactions métallo-catalysées représentent une approche innovante et prometteuse pour le développement de nouveaux pharmacophores bioactifs. Ces structures moléculaires jouent un rôle crucial dans la recherche de composés antiparasitaires (paludisme, leishmanioses, trypanosomiasés), ainsi que dans la lutte contre des maladies virales telles que le SARS-CoV-2. De plus, l'identification de nouveaux agents anti-leucémiques et anticancéreux est devenue une priorité pour la communauté scientifique, afin de répondre aux défis posés par ces pathologies. En intégrant des méthodologies avancées de catalyse, telles que les réactions de type Chan-Lam, Buchwald-Hartwig, Sonogashira ou Suzuki-Miyaura, il est possible d'explorer de nouvelles pistes pour la création de candidats-médicaments efficaces [1], tout en optimisant leur spécificité et leur activité biologique. Cette recherche s'inscrit dans un contexte où l'innovation est essentielle pour faire face aux enjeux de santé publique actuels, dont fait également partie l'antibiorésistance bactérienne.

Parmi les nombreuses définitions que l'on pourrait établir sur le thème de la Pharmacochimie, il en est une qui résume l'état d'esprit dans nos projets scientifiques : "Contribuer à une valorisation de la recherche en chimie du médicament et dans le domaine de la santé humaine, et ce, par la création de molécules originales". Il faut avant tout garder à l'esprit que 60 à 70 % des nouveaux médicaments approuvés par la FDA chaque année sont en fait des médicaments d'origine chimique, et cette proportion est stable depuis 30 ans. Il faut aussi noter que la proportion de médicaments chimiques dépasse largement les 80 % dans la liste des médicaments essentiels établie par l'OMS (*World Health Organization*, 2019) [2,3].

[1] M. J. Buskes, M.-J. Blanco. Impact of Cross-Coupling Reactions in Drug Discovery and Development. *Molecules* **2020**, 25, 3493; doi:10.3390/molecules25153493.

[2] WHO Headquarters, Geneva, 1-5 April 2019. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/325773>.

[3] Académie nationale de Pharmacie, « Chimie pour la pharmacie et les sciences pharmaceutiques », Rapport validé par le Conseil d'Administration du 8 décembre 2021.

Cell response to HIV-1 infection: Unveiling the role of RAD51 and BRCA1/2 in viral DNA dynamics

Vincent Parissi ^{1, @}

1 : Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité

Université Bordeaux Segalen - Bordeaux 2, Centre National de la Recherche Scientifique

Laboratoire Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité MFP - CNRS UMR 5234 Université de Bordeaux 2, Rue Hoffmann Martinot - Bât Bordeaux Biologie Santé (BBS) - 3ème étage 33076 Bordeaux Cedex - France

Lapaillerie D.1, &, Tumiotto C.1, &, Scoca V.2,&, Figueiredo, S.3, &, Lesbats P.1,&, Delelis O.4,&, Di Nunzio F.2,&, Dutrieux J.3,&, and Parissi Vincent1,&

1Fundamental Microbiology and Pathogenicity Lab (MFP), UMR 5234 CNRS-University of Bordeaux, SFR TransBioMed. Bordeaux, France.

2Advanced molecular virology unit, Virology department, Pasteur Institute, Paris, France.3« Cellules dendritiques, lymphocytes B et cytokines dans leur microenvironnement au cours des infections virales et du cancer » team, INSERM U1016-CNRS UMR 8104, Cochin institute, Paris, France. 4«Virologie fondamentale et pharmacologie des pathologies infectieuses» VIR2P1 unit, ENS Paris Saclay-Laboratoire de biologie et pharmacologie appliquée, LBPA, Gif sur Yvette, France. &Viral DNA Integration and Chromatin Dynamics Network (DyNAVIR).

HIV-1 infection triggers various cellular pathways that modulate viral replication and may contribute to the establishment of stable infection and latency. In this context, integration requires the delivery of the intasome to the chromosomal insertion locus, involving the cellular proteins **CPSF6** and **LEDGF/p75**. The final integration event is dependent on the chromatin structure encountered by the intasome. Remodeling factors, such as the histone chaperone **FACT**, facilitate access the target nucleosome. Integration catalysis and post-integrative DNA repair can then occur. We have previously shown that the homologous recombination (HR) repair protein **RAD51** can modulate both pre-integrative and post-integrative phases. Notably, LEDGF/p75 has been shown to promote DNA resection during RAD51-mediated homologous repair. Furthermore, FACT facilitates the deposition of the gamma-H2AX mark on damaged sites prior to their repair and RAD51 is particularly involved in this process in highly transcribed regions targeted by HIV-1. Finally, a tripartite interaction between LEDGF/p75, FACT, and integrase (IN) has been reported. These factors may thus operate within the same protein network, mobilized in response to the arrival of viral DNA and regulating the integration of the virus. This prompts us to further investigate the role of this functional network.

Our current project has led us to demonstrate that the infection triggers the formation of RAD51 nuclear foci through a mechanism dependent on the BRCA1/BRCA2 repair pathway. Chromatin immunoprecipitation (ChIP), imaging and biochemical approaches indicate that RAD51 is rapidly loaded onto the viral DNA as soon as it is synthesized during reverse transcription, prior to integration. Genetic and chemical inhibition of this process results in decreased viral infectivity and integration, alongside inhibition of reverse transcription. Furthermore, our study on the stability of non-integrated viral DNA under conditions of BRCA1/2 pathway inhibition reveals increased persistence.

Our results uncover a new cellular response to infection involving the recruitment of these repair factors to the viral DNA, modulating the reverse transcription step and influencing the fate of different populations of viral DNA. This process may contribute to the persistence of viral genomes in infected cells and the establishment of latent virus reservoirs.

Lapaillerie *et al.*, Submitted

Thierry *et al.*, Chem Biol 2015

Cosnefroy *et al.*, J. Virol 2012

Sidaction 22-2-AEQ-13443-1

Host chromatin invasion by HIV-1 genome

Vincent Parissi ^{1, @}

1 : Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité

Université Bordeaux Segalen - Bordeaux 2, Centre National de la Recherche Scientifique

Laboratoire Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité MFP - CNRS UMR 5234 Université de Bordeaux 2, Rue Hoffmann Martinot
- Bât Bordeaux Biologie Santé (BBS) - 3ème étage 33076 Bordeaux Cedex - France

Modulation of retroviral intasome access to the functional nucleosome interfaces by the neighboring chromatin

Lapaillerie D.1, &, Zgadzay, Y.2, &, Benedetti C1, &, Autin M.1, &, Tumiotto C.1, &, Charlier C.3, &, Munier-Lehmann H.4, &, Delelis O.5, &, Lesbats P.1, &, S. Sousa6, Ruff M.2, & and **Parissi V.1, &**

1Mobility of pathogenic genomes and chromatin dynamics group, Laboratoire de Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité (MFP), UMR 5234 CNRS-Université de Bordeaux, Bordeaux, France. 2IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), Département de Biologie Structurale intégrative, UDS, U596 INSERM, UMR7104, CNRS, Strasbourg, France. 3Plateforme IMPACT, université de Nantes. 4Groupe biochimie et criblage, institut Pasteur, Paris, 5LBPA, ENS Cachan, France, 6BioSIM, Porto medical university, & Dynamic of the interaction between viral and cellular chromatin CNRS GDR 2194 (DyNAVIR).

Cell chromatin constitutes the first non-return contact point between the genome of incoming infectious agents, as integrative viruses, and their Host. The HIV-1 integration requires the functional association between the viral integration complex (intasome) and the host chromatin involving multiple interfaces between the integrase, the target DNA and the histone components of the nucleosome. Our previous work has shown that these associations are regulated by cellular factors, such as LEDGF/p75, the histone chaperone FACT, and the structure of the chromatin surrounding the targeted nucleosome (1–3). Our current project aims to identify these functional interfaces and the molecular mechanisms underlying the regulation of integration at the nucleosomal sites.

Characterization of the integrase-chromatin interactions by biochemical approaches and chromosome spreads highlighted an intrinsic property of binding to the chromatin and its regulation by the cellular LEDGF/p75 cofactor. We have also shown the importance of both histone tails and the carboxy-terminal CTD IN domain in this process. Furthermore, we have demonstrated that the neighboring nucleosomes modulate the functional binding of the intasome to the catalytic target nucleosome. Analyses of the HIV-1 and foamy virus nucleosomal insertion sites showed distinct functional interfaces at the surface of the nucleosome and different sensitivity toward neighboring chromatin. These results suggest that the nucleosomal docking sites participate in modulating the sensitivity of retroviral intasome toward chromatin structure. The effect of IN mutations or alphaScreen-selected drugs targeting these interfaces confirmed that they participate in the efficiency of integration but also in the insertion site selection both *in vitro* and in infected cells.

Our data suggest the involvement of distinct functional and structural nucleosomes in the formation of an HIV-1 active strand transfer complex. Our data also support a role of the retroviral IN CTDs as sensors of the chromatin structure by scanning available histone and DNA interactions participating for the selection of optimal functional interfaces and, thus, for efficient genome invasion.

Based on these data we have further developed pharmacology approaches to selected drugs targeting these nucleosome/intasome interfaces. The identification of such molecules active both *in vitro* and in infected cells will be presented.

1. Benleulmi, M.S., *et al.*, *Retrovirology* 2017

2. Matysiak, J. *et al.*, *Retrovirology* 2017

3. Mauro, E. *et al.*, *NAR*, 2019

4. Lapaillerie, D., *et al.*, *NAR*, 2021

5. Mauro *et al.*, *mBio* 2023

INterfaces and StructurIN ANRS grants

INvasIN FRM grants

Utilisation d'oligonucléotides modifiées pour inhiber la traduction de β -lactamase chez les Entérobactéries.

Lisa Scillia 1, 2, @ , Henri Barry 2, @ , Dominique Begu 1, @ , Maha Saleh 1, @ , Tina Kauss 2, @ , Corinne Arpin 1, @

1 : Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité

Centre National de la Recherche Scientifique, Université de Bordeaux (Bordeaux, France)

2 : Acides Nucléiques : Régulations Naturelle et Artificielle

Université de Bordeaux, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Institut de Chimie - CNRS Chimie, Centre National de la Recherche Scientifique

L'antibiorésistance est un problème majeur de santé publique. L'impact humain de l'antibiorésistance au niveau mondial a été estimé à 1,27 million de décès en 2019, et les dernières prévisions feraient état de 39 millions de morts d'ici 2050, soit 2,4 millions par an (Kariuki S., *The Lancet*, 2024). La lutte contre l'antibiorésistance nécessite donc une action coordonnée et urgente pour lutter contre ce fléau. Dans sa liste de 2024 des bactéries pathogènes prioritaires, l'OMS a classé les entérobactéries comme *Escherichia coli*, résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) par production de β -lactamases à spectre élargi (BLSE), dans le groupe critique pour la Recherche & le Développement. Une des solutions pour lutter contre l'antibiorésistance est l'amélioration d'antibiotiques existants. Pour cela, les laboratoires ARNA et MFP ont développé une stratégie utilisant des oligonucléotides antisens (ASO), complémentaires de l'ARNm *bla*CTX-M-15 pour inhiber la traduction de CTX-M-15, la BLSE la plus prévalente en Europe.

Le modèle d'étude utilisé est la souche d'*E. coli* TcK12 produisant CTX-M-15, ce qui lui confère une résistance à la ceftriaxone (CFX), une des C3G la plus prescrite. L'ajout d'un lipide (LASO) en 5' a permis de diminuer d'un facteur de 26 fois, la concentration minimale inhibitrice de la CFX (CMICFX) d'*E. coli* TcK12 et d'une souche d'origine clinique. L'analyse de la quantification de la protéine CTX-M-15 par des expériences de Western blot (n=2) réalisés sur la souche TcK12 montrent une inhibition d'un facteur 4 en présence du LASO et d'un facteur 2 avec LASO et CFX. La spécificité et la reproductibilité restent à démontrer.

Dans l'éventualité de résultats non spécifiques et/ou reproductibles, d'autres voies pour expliquer la diminution de la CMICFX devront être explorées pour valoriser l'utilisation des LASO en stratégie de lutte contre l'antibiorésistance.

Real-time Monitoring of PROTACS and Molecular Glue Targeted Degradation in Living Cells

Ludivine Sinzelle ^{1, @}, Kristin M. Riching ², Sarah Mahan ², Elisabeth A. Caine ², James Vasta ², Cesear Corona ², Matt Robers ², Danette L. Daniels ², Marjeta Urh ²

1 : PROMEGA

Entreprise privée

2 : PROMEGA

The emergence of targeted protein degradation as a broad, new therapeutic modality has greatly expanded the opportunities for treatments of many diseases. Currently, small molecule degrader compounds fall under two major categories: molecular glues and heterobifunctional PROTACs. The two types of compounds both facilitate and induce a ternary complex consisting of an E3 ligase-degrader-target protein, bringing into proximity the machinery proteins required to ubiquitinate and ultimately degrade the target protein. Significant challenges exist in characterization and rank-ordering of degradation compounds in live cells given the differences in dynamics of protein loss and recovery among compounds. Currently, the availability of technologies to interrogate real-time protein degradation is severely lacking.

Here, we present a live-cell, luminescence-based technology platform with these capabilities. We use CRISPR/Cas9 endogenous tagging of target proteins with the small peptide, HiBiT, which has high affinity for and can complement with the LgBiT protein to produce NanoBiT luminescence. This allows for sensitive detection of endogenous protein levels in living cells and can also serve as a BRET energy donor to study protein/protein or protein/small molecule interactions. We demonstrate the power of this technology in continuous 24-hour monitoring of endogenous target protein levels, and the ability to quantify key degradation parameters for compound ranking including rate, D_{max}, and D_{max50}. We further show the ability to measure the mechanistic steps important for the degradation including kinetics of PROTAC-or molecular glue-induced ternary complex formation and target ubiquitination.

These studies facilitate discernment of individual parameters required for successful degradation, ultimately enabling chemical design strategies for optimization and rank ordering of therapeutic degradation compounds.

Development of bioinspired non-viral vectors for gene therapy

Morgan Wloch ^{1, @} , Pauline Trousselier, Benoit Guichard, Christophe Grosset, Valérie Desvergnès, [@]

¹ : Institut des Sciences Moléculaires

Université Sciences et Technologies - Bordeaux 1, Institut de Chimie - CNRS Chimie

Bâtiment A 12 351 cours de la Libération 33405 TALENCE CEDEX - France

Despite therapeutic improvements, pediatric malignancies continue to be a leading cause of children death.[1] These tumors are distinguished by distinct genetic mutations that play an important role in tumor cell survival and proliferation. Regarding preliminary research, gene therapies addressing these mutations present encouraging new opportunities highlighting the potential usefulness of this technique. In this context, safe and effective delivery systems (vectors) are becoming important. The viral vectors commonly utilized for therapeutic gene transfer in humans are successful, but they have significant drawbacks. They are not necessarily specific to cell types, which presents a major challenge due to their immunogenicity. Consequently, nonviral vectors provide a promising alternative for pediatric patients. Previous research has demonstrated that nucleic acid-derived compounds, known as nucleolipids (NLs), exhibit high transfection efficiency through hydrophobic and electrostatic interactions and nucleobase pairing. NLs are bioinspired, biodegradable molecules formed by covalently bonding a lipid to a nucleic acid derivative, resulting in a structure akin to cell membranes.[2] Our team's studies have revealed that lipophilic NLs function as non-viral vectors, showing greater compatibility with human cells compared to their lipid analogues.[3, 4] Building on these advantages of multivalency and the bioinspired nature of NLs, as well as the promising results from prior research, we investigate the design and synthesis of nucleolipid multimeric conjugates (MNLs) as non-viral chemical nanovectors for nucleic acid drug delivery.

[1] Zhang, Y. *et al.* Molecular Mechanisms of Hepatoblastoma. *Semin Liver Dis* **2021**, *41*, 28-41.

[2] Allain, V., *et al.* Self-assembled nucleolipids: from supramolecular structure to soft nucleic acid and drug delivery devices. *Nucleic Acids Res.* **2012**, *40*, 1891-1903.

[3] Cunha, A. *et al.* Synthesis and Intracellular Uptake of Rhodamine-Nucleolipid Conjugates into a Nanoemulsion Vehicle. *ACS Omega* **2020**, *5*, 5815-5823.

[4] Brouillard, M. *et al.* Modulating Lysosomal pH through Innovative Multimerized Succinic Acid Based Nucleolipid Derivatives. *Bioconj. Chem.* **2023**, *34*, 572-580.

Liste des participants

Stéphane	ARBAULT	CBMN
Corinne	ARPIN	MFP
Clémentine	AUBRY	LTPIB
Virginie	BAYLOT	ARNA
Claudine	BOIZIAU	BIOTIS
Margot	BOUILLE	BRIC
Julien	BRILLAULT	4CS
Christina	CALMELS	MFP
Frédéric	CANTAGREL	ISM
Ramzi	CHELLALI	CBMN
Cléo	CHIDAINÉ	ARNA
Guillaume	COMPAIN	CBMN
Gabriel	COULOMBE	ISM
Romane	DAUGUET	ARNA
Charline	DECHAMPS	ARNA
Nicolas	DESBENOIT	CBMN
Vanessa	DESPLAT	BRIC
Jean	DESSOLIN	CBMN
Valérie	DESVERGNES	ARNA
Virginie	DINET	U1034
Pierre	DUBOIS-GEOFFROY	CBMN
Guillaume	DURAND	BORDEAUX SCIENCES AGRO
Stéphane	DUVEZIN-CAUBET	IBGC
Asmae	ENNAJDI	--
Sandrine	FEDOU	BRIC
Ludivine	FEREY	ARNA
Alexandrine	FERREIRA DE SOUSA	UGAP
Lucile	FISCHER	CBMN
Isabelle	FORFAR	U1034
Pascal	FOSSAT	IMN
Isabel	GALEANO OTERO	BRIC
Frédérique	GALETTO	REFEYN
Adèle	GAPIN	LCPO
Elisabeth	GARANGER	LCPO
Flavie	GAUDIN	ARNA
Arnaud	GISSOT	ARNA
Margot	GOIZET	MFP
Patrice	GOUET	MMSB
Christophe	GROSSET	BRIC
Hugo	GROULT	LIENSS
Jean	GUILLON	ARNA
Amélie	GUITART	BRIC

Birgit	HABENSTEIN	CBMN
Dalal	KASMI	--
Majid	KHATIB	BRIC
Lindita	LARI	ARNA / BRIC
Marjolaine	LEBON	Advion-Interchim
Bertrand	LIAGRE	LABCIS
Yiyang	LIU	BRIC
Anaïs	LUTON	CBMN
Pauline	MARCHAL	MFP
Nicolas	MARTIN	CRPP
Marta	MARTIN-BORNEZ	BRIC
Jean-Pierre	MAZAT	IBGC
Philippe	MELLET	CRMSB
Mathilde	MENDES BOUSSARD	BRIC
Amandine	MENGUE	BRIC
Mathieu	MÉTIFIOT	MFP
Mohamed	MOKRANI	BORDEAUX SCIENCES AGRO / CBMN
Clément	MORGAT	INCIA
Majid	NOUBHANI	CBMN
Nangouban	OUATTARA	OENO
Vincent	PARISSI	MFP
Patrick	PAUMARD	IBGC,
Sofia	PERRET	UGAP
Baptiste	PESQUET	ENSC
Stéphane	PICARD	UGAP
Pauline	POINOT	IC2MP
Branwen	PORTANGUEN	BRIC
Mathieu	PUCHEAULT	ISM
Murielle	REMY	CBMN
Tristan	RICHARD	OENO
Jose	SANCHEZ COLLADO	BRIC
Joris	SANSEN	CBMN
Lisa	SCILLIA	MFP / ARNA
Claire	SERGEANT	LP2I BORDEAUX
Géraldine	SIEGFRIED	BRIC
Ludivine	SINZELLE	SOCIÉTÉ PROMEGA
Wassila	SOUFI	LASNABIO
Magali	SZLOSEK	ISM
Emmanuelle	THINON	CBMN
Laetitia	VARAJAO	IECB/CBMN
Brune	VIALET	ARNA
Anielle	VILLERONCE	ARNA
Pierre	WAFFO-TEGUO	UMR OENO
Morgan	WLOCH	ARNA