

Civilité : **Mme** **Nom patronymique : ANDRE**
Prénom : **Corinne**

Nom usuel : **MIRAL**

Née le : 11/05/1970 à Murat (15), France.

Situation de famille : Mariée, 2 enfants.

Grade : Maître de Conférences, 5^{ème} échelon depuis le 01/03/2009

Etablissement d'affectation : Faculté des Sciences et Techniques de Nantes, Université de Nantes

Section de CNU : 32

Unité de recherche d'appartenance : **Laboratoire de Biotechnologie, Biocatalyse, Biorégulation - UMR CNRS 6204, 2 rue de la Houssinière - BP 92208-44322 Nantes Cedex 3.**

1. Publications et production scientifique

Formation et diplômes

Depuis 01/09/1998 : **Maître de Conférences** (section 32 du CNU) à la Faculté des Sciences et des Techniques de Nantes.
1997-1998 : **Stage post-doctoral** dans le laboratoire du Professeur D.H.G. Crout, Department of Chemistry, Université de Warwick (UK).
1993-1997 : Thèse de Doctorat
Laboratoire de Synthèse Et Etudes de Systèmes à Intérêt Biologique (SEESIB - UMR 6504) - Université Blaise Pascal (Clermont-Ferrand)

Dossier Scientifique (période 2006-2009)

Depuis 1998, 12 publications parues dans des revues internationales avec comité de Lecture,
1 brevet Patent BR86484, 2008/09/03

Production scientifique sur la période 2006-2009 : 1 publication et 1 brevet.

Publication :

“Galactosylated multimodular lipoplexes for specific gene transfer into primary hepatocytes.”

Letrou-Bonneval E, Chèvre R, Lambert O, Costet P, **André C**, Tellier C, Pitard B.

J Gene Med., **10**, n°11, 1198-1209 (2008)

IP : 3.544

Dépôt de brevet

”Novel multimodular assembly useful for intracellular delivery”

Pitard B, Letrou-Bonneval E, **André C**, Tellier C.

Patent BR86484, 2008/09/03.

2 articles sont actuellement en cours de rédaction

2. Encadrement doctoral et scientifique

Au cours de la période **2006-2009**, j'ai encadré **6 Master recherche** et co-dirigé **1 thèse** (E. LETROU-BONNEVAL). Depuis le 01/03/2010, je co-dirige une thèse (H. NIAMKEY) en co-tutelle avec l'Université d'Abobo-Adjamé (Côte d'Ivoire).

Thèses de Doctorat de l'Université de Nantes

2005-2009 : Emilie LETROU-BONNEVAL

Thèse co-encadrée avec Bruno Pitard unité INSERM U533, Université de Nantes. (B. Pitard 70% - C. Miral 30%)

Sujet : « Transports intracellulaires ciblés de macromolécules biologiques » - **Thèse soutenue le 05/02/2009**

Publication : *J Gene Med.* 2008 Nov, 10(11):1198-209.

Letrou-Bonneval E, Chèvre R, Lambert O, Costet P, André C, Tellier C, Pitard B.

“Galactosylated multimodular lipoplexes for specific gene transfer into primary hepatocytes.”

Dépôt de Brevet : **Patent BR86484, 2008/09/03.**

Pitard B, Letrou-Bonneval E, André C, Tellier C.

« Novel multimodular assembly useful for intracellular delivery »

2010 – 2013 : Hubert NIAMKEY

Thèse en co-tutelle Université de Nantes- Université d'ABOBO-ADJAME (Côte d'Ivoire)

Co-encadrement avec Charles Tellier (C. Tellier 40% - C.Miral 60%) - **Début de la thèse : 01/03/2010**

Sujet : « O-N-acetylglucosaminylation de néo-glycopeptides et néoglycoprotéines au moyen de trans-N-acetylglucosaminidases »

Mes travaux de recherches réalisés au sein du laboratoire U3B – UMR CNRS 6204, au cours de la période 2006-2009 sur laquelle porte ce rapport, se sont déroulés dans l'équipe du Professeur Charles TELLIER.

L'équipe développe des approches d'ingénierie des protéines en utilisant les techniques d'évolution moléculaire dirigée. Ces techniques sont appliquées aujourd'hui dans deux directions : l'ingénierie de glycosidases en transglycosidases dans le but d'obtenir des enzymes capables de synthétiser des oligosaccharides pour des applications diagnostiques ou thérapeutiques et le développement de nouvelles ossatures protéiques alternatives aux anticorps pour des applications biotechnologiques.

Le développement du premier thème dans lequel se positionne mon travail de recherche répond à deux préoccupations : (i) comprendre les bases structurales qui régissent la balance entre les deux activités catalytiques des glycosylhydrolases, hydrolyse et transglycosylation, et (ii) développer de nouveaux outils enzymatiques adaptés à la synthèse à grande échelle d'oligosides d'intérêt thérapeutique.

La recherche que j'ai menée sur cette période concerne donc plus particulièrement deux axes principaux : l'ingénierie de sucres donneurs et accepteurs pour la synthèse enzymatique d'oligosaccharides et le développement de glycoconjugués d'intérêt thérapeutique et peut être résumée comme suit :

Thème 1 : Ingénierie de sucres donneurs et accepteurs pour la synthèse enzymatique d'oligosaccharides.

3 M2R : D. Tézé (2008), A. Pennec (2009) et K. Deniel (2009).

Les glycoside hydrolases sont des enzymes particulièrement abondantes dans tous les domaines du vivant. Elles sont impliquées dans la dégradation des polysides et glycoconjugués naturels. Elles sont classées en 115 familles (CAZy) sur la base de leurs similitudes de séquences et de structure. Les membres de chaque famille ont une structure 3D similaire et un mécanisme catalytique identique. Cette superfamille fonctionnelle constitue donc le paradigme des stratégies d'évolution divergente et convergente dans les protéines.

Dans le but de mieux comprendre les relations structure/fonction de ces enzymes, nous avons entrepris de convertir une β -glycosidase de la famille 1 en N-acétyl-glucosaminidase, activité qui est totalement absente dans la famille 1 mais présente dans les familles 3, 20, 84. Le docking de la N-acétylglucosamine dans le site (-1) de la β -glycosidase de *Thermus thermophilus* a suggéré la mutation N163A pour éliminer le conflit stérique induit par le groupe N-acétyle. Cette mutation induit une activité N-acétyl-glucosaminidase dont le mécanisme, semblable à celui de la famille 3, implique la formation d'un intermédiaire covalent glycosyl enzyme. Par contre, l'introduction de la double mutation N163D E338G génère une activité N-acétylglucosaminidase similaire à celle de la famille 20 et 84, qui utilise un mécanisme impliquant une assistance du substrat avec la formation d'un intermédiaire oxazolinium ou oxazoline. Aussi, afin de tester et d'améliorer l'efficacité de ces nouveaux enzymes, mon travail a consisté plus particulièrement à développer la synthèse, l'analyse et l'utilisation de nouveaux groupements activateurs tels que les oxazolines, azotures et/ou les fonctions aminooxy disubstituées afin d'obtenir des sucres donneurs et accepteurs mieux adaptés à la synthèse enzymatique. Les nouveaux donneurs et accepteurs ainsi obtenus ont permis de mettre en évidence une activité trans-N-acétylglucosaminidase lorsque le double mutant est incubé en présence de NAG-oxazoline, analogue de l'intermédiaire réactionnel dans le mécanisme d'assistance par le substrat. Cette activité de

transglycosylation en présence d'oxazoline suggère que ce substrat donneur pourrait être un moyen de transformer une β -hexoaminidase en trans-hexoaminidase pour des applications en synthèse d'oligosaccharides.

Plus généralement, ce travail a permis de démontrer qu'il est possible d'échanger des spécificités et des mécanismes catalytiques avec un minimum de mutations entre des charpentes protéiques phylogénétiquement éloignées.

Deux publications sont actuellement en cours de rédaction sur ces aspects, une concernant la réactivité et l'utilisation de nouveaux accepteurs de type aminooxy disubstitués pour la synthèse enzymatique d'oligosaccharides et la seconde sur la possibilité de convertir une β -glycosidase de la famille 1 en N-acétylglucosaminidase et sur l'utilisation d'un nouveau substrat donneur, l'oxazoline de la N-acétylglucosamine, comme intermédiaire de réactions de transglycosylation.

Ces travaux de recherche sont directement liés au second axe des recherches que je développe et ont permis d'initier et de proposer un nouveau sujet de thèse (**thèse de H. Niamkey, début 01/03/2010**) concernant le criblage et l'ingénierie de nouvelles N-acetylglucosaminases pour O-N- acetylglucosaminylation de néo-glycopeptides et néoglycoprotéines.

L'objectif de ce travail sera de transposer ce savoir-faire à la glycosylation de peptides et protéines, dans un premier temps *in vitro*, à l'aide d'hexoaminidases bactériennes mutées capables d'utiliser des dérivés oxazolines de glucose comme donneur de O-GlcNAc. Dans une deuxième étape, cette O-N-acetylglucosylation pourrait être effectuée *in vivo*, directement lors de la sur-expression dans les bactéries en co-exprimant dans le périplasma la protéine à glycosyler et l'enzyme mutée. Cette approche devrait permettre de produire des quantités suffisantes de peptides et protéines glycosylées dont la position et le nombre de O-GlcNAc pourront être modulés pour pouvoir envisager de tester leur rôle dans le fonctionnement cellulaire et d'optimiser les séquences augmentant l'adressage nucléaire. Ce dernier point pourrait avoir des retombées importantes comme une alternative aux séquences classiques d'adressage nucléaire (NLS) dans la conception de nouveaux outils de ciblage et vectorisation nucléaire.

La partie biologique de ce projet sera menée en collaboration avec l'équipe du Professeur Michalski (UMR 8576 CNRS- Villeneuve d'Ascq).

- Thème 2 : développement de glycoconjugués d'intérêt thérapeutique.

2 Thèses : E. Letrou-Bonneval (soutenue le 05/02/2009, **1 publication et un dépôt de brevet**) et 1 thèse en cours : **H. Niamkey** (début : 01/03/2010, fin prévue en 2013) ; **3 M2R : G. Simon** (2006), **G. Pourceau** (2007) et **R. Coffinier** (2010).

Il s'agit par le développement de ce sujet de répondre à la questions suivante : comment concevoir et développer de nouveaux outils compétitifs pour la synthèse à grande échelle d'oligosides et glycoconjugués d'intérêt thérapeutique ? Le développement de glycoconjugués d'intérêt thérapeutique nécessite des collaborations étroites avec des équipes médicales. Dans cette optique, nous avons initié en 2005 une collaboration avec l'équipe du Dr B. Pitard (UMR_S 915 - Institut du thorax – INSERM) pour le développement et le ciblage de nouveaux vecteurs synthétiques pour le transfert d'ADN. Ce sujet a fait l'objet d'un projet de thèse en co-encadrement (Thèse E. Letrou-Bonneval soutenue le 05/02/2009) et d'un soutien par ***l'Association Vaincre la Mucoviscidose***

En effet, le développement de nouveaux systèmes capables de transporter spécifiquement *in vitro* et *in vivo* des acides nucléiques dans des cellules cibles représente aujourd'hui un enjeu majeur pour le traitement de pathologies héréditaires ou acquises. Les vecteurs synthétiques cationiques utilisés jusqu'à présent s'avèrent très efficaces pour le transfert de gène *in vitro* mais la forte densité de charges positives présentes à la surface des complexes vecteurs/ADN conduit à une transfection non spécifique dans un type cellulaire donné.

Nous avons au cours de ce travail mis au point un système alternatif pour s'affranchir des interactions non spécifiques avec les membranes cellulaires. Ce système correspond à un assemblage supramoléculaire proche de l'électroneutralité constitué d'un cœur d'ADN condensé et d'une couronne périphérique de stabilisateurs stériques ioniques ou non ioniques fonctionnalisés par des résidus galactose afin de cibler spécifiquement le récepteur aux asialoglycoprotéines présent à la surface des hépatocytes. Nous avons mis en évidence que la présence des résidus galactose permet à ce système d'exprimer spécifiquement un transgène dans les hépatocytes primaires alors que le système multimodulaire non galactosylé est incapable de transfecter ces cellules. Une nouvelle génération de vecteurs synthétiques a dans un deuxième temps été développée pour le transfert de gène dans le tissu pulmonaire ce qui constitue une alternative indispensable aux lipides cationiques couramment utilisés lors des essais cliniques qui induisent une forte toxicité se traduisant par une importante inflammation au niveau des voies aériennes. Ce nouveau système de vectorisation est constitué de copolymères à blocs amphiphiles fonctionnalisés par un ligand de type glycosidique. Les copolymères à blocs ont été fonctionnalisés par voie enzymatique et/ou chimique en 4 étapes avec un taux de greffage des motifs galactose proche de 80%. Divers gènes rapporteurs ont été complexés aux copolymères à blocs galactosylés puis injectés en intratrachéale dans les poumons de souris. Nous avons ainsi pu mettre en évidence que la présence de galactose permet d'améliorer significativement l'efficacité de transfection des copolymères à blocs natifs en transfectant un plus grand nombre de cellules épithéliales pulmonaires. **Ces travaux ont fait l'objet d'une publication et un dépôt de brevet.**

3. Rayonnement

Communications Orales dans des congrès

C1. Groupe Français des Glucides (*Le Croisic, 15-18 mai 2006*) : Transport d'ADN dans les hépatocytes primaires par ciblage du récepteur aux asialoglycoprotéines.

Letrou-Bonneval E., Désigaux L., André C., Tellier C. et Pitard B.

C2. Colloque Jeunes Chercheurs VLM (*Paris-Institut Pasteur, 2007*) : Développement d'une nouvelle classe de vecteurs pour le transfert de gène pulmonaire.

Letrou-Bonneval E, Chèvre R, Lambert O, Costet P, André C, Tellier C, Pitard B

C3. 1st European CF Young Investigator Meeting (*Lille, août 2007*): Novel galactosylated amphiphilic block copolymers promote gene transfer to the lung.

Letrou-Bonneval E, Chèvre R, Lambert O, Costet P, André C, Tellier C, Pitard B

C4. Colloque Jeunes Chercheurs VLM (*Paris-Institut Pasteur, 2008*) : Développement d'une nouvelle classe de vecteurs pour le transfert de gène pulmonaire.

Letrou-Bonneval E, Chèvre R, Labas R, Gourden C, André C, Tellier C, Pitard B

C5. Groupe Français des Glucides (*Ax-les-Termes, 19-22 mai 2008*): Développement d'une nouvelle classe de vecteurs pour le transfert de gène pulmonaire.

Letrou-Bonneval E, Chèvre R, Labas R, Gourden C, André C, Tellier C, Pitard B.

C6. Société Francophone de Thérapie Génique et Cellulaire (*Presqu'île de Giens, 15-17 juin 2008*): Novel class of synthetic vectors promote gene transfer to the lung.

Letrou-Bonneval E, Chèvre R, André C, Tellier C, Pitard B.

C7. SFBBM (*Nancy, 25-29 août 2009*) : Création *de novo* d'une activité N-acetylglucosaminidase par ingénierie rationnelle du mécanisme d'une β -glycosidase de la famille 1.

Kone F., André-Miral C., Dion M., Tran V., Rabiller C. et Tellier C.

Communications par affiche

A1. Colloque Jeunes Chercheurs VLM (*Nogent sur Marne, 2006*) : Nanocomplexes lipides-ADN ciblés pour le transfert de gène dans le foie.

Letrou-Bonneval E., Désigaux L., André C., Tellier C. et Pitard B.

A2. 1st European CF Young Investigator Meeting (*Lille, 2007*): Novel galactosylated amphiphilic block copolymers promote gene transfer to the lung.

Letrou-Bonneval E, Chèvre R, Lambert O, Costet P, André C, Tellier C, Pitard B

A3. Rencontres CardioMet (*Nantes, 2008*): Novel galactosylated amphiphilic block copolymers promote gene transfer to the lung.

Letrou-Bonneval E, Chèvre R, André C, Tellier C, Pitard B.

Conférence invitée :

« Ingénierie de donneurs et accepteurs ; Synthèse de glycoconjugués »

Laboratoire de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle - UMR 8576 - UFR de Biologie - Université des Sciences et Technologies de Lille – 6 juillet 2009

Collaboration scientifique Nationale :

Laboratoire de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle - UMR 8576 - UFR de Biologie - Université des Sciences et Technologies de Lille - 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex- France :
Dr Jean-Claude Michalski (Directeur de recherche INSERM)

Thème de la collaboration scientifique : O-N-acetylglucosaminylation de néo-glycopeptides et néoglycoprotéines au moyen de trans-N-acetylglucosaminidases

Collaborations scientifiques Locales :

UMR_S 915 - Institut du thorax – INSERM - 1, rue Gaston Veil BP- 44035 Nantes -France :
Dr Bruno Pitard (Directeur de recherche CNRS)

Thème de la collaboration scientifique : Transports intracellulaires ciblés de macromolécules biologiques.

Co-encadrement de la thèse d' Emilie LETROU-BONNEVAL.

UMR_S 892 - Centre de Recherche en Cancérologie Nantes – Angers - 1, rue Gaston Veil - 44035 - France

Dr Jacques Le Pendu (Directeur de recherche CNRS)

Thème de la collaboration scientifique : Développement de leurres antiviraux oligosidiques pour inhiber l'adhésion des norovirus, responsables de la majorité des gastroentérites.

Cette collaboration s'inscrit dans le cadre du programme CIMATH (Ciblage Moléculaire et Applications Thérapeutiques), programme de recherche transversal financé par la Région Pays de la Loire (2006-2009).

4. Responsabilités scientifiques

* Responsable du Master 1 Chimie – Faculté des Sciences – Université de Nantes – (depuis 2008) :

Depuis juin 2008, je partage avec le Dr. Hélène Terrisse la responsabilité du Master 1 Chimie. Ma tâche consiste en l'organisation et la gestion de l'aspects professionnalisant de cette filière. Dans ce cadre je gère plus particulièrement le suivi des stages (stages de 4 mois en laboratoires de recherches académiques et/ou industriels) et l'organisation des soutenances de stage ainsi que le lien avec les partenaires industriels de la formation. J'assure le suivi et la gestion des stages depuis 2006.

* Animation de 2 formations professionnelles proposées par le collège doctoral de Nantes (depuis 2006) :

- **Nouveau Chapitre de la Thèse (code MEDMP27)**. Cette formation s'adresse aux doctorants en fin de thèse. Il s'agit d'une réflexion autour de la valorisation des compétences dans un « nouveau chapitre de la thèse ». L'objectif est de présenter la thèse comme une première expérience de conduite de projet professionnel et ce dans une perspective de valorisation des acquis et d'identification des pistes professionnelles qui s'ouvrent au jeune docteur. Le doctorant est invité à réaliser une analyse critique de la façon dont il a géré son projet de thèse et à prendre conscience des compétences professionnelles qu'il a développées.

- **Validation du projet professionnel (code MEDMP28)**. Cette formation s'adresse à de petits groupes de doctorants en fin de thèse (6 à 10 personnes maxi). L'objectif est de trouver un emploi correspondant à son projet professionnel à l'issue de sa soutenance de thèse. 2 actions sont proposées : le partage d'informations et d'expériences en groupe et la mise en situation d'entretien. Il s'agit de mettre à l'épreuve et de valider le projet professionnel du doctorant, de développer le réseau local des jeunes docteurs, l'effet de groupe jouant un rôle psychologique triple de rupture de l'isolement, de dynamisme et de motivation.

*Responsabilités administratives :

- Correspondant de l'Association Bernard Grégory pour l'Université de Nantes **depuis 2004**.

- Membre élu du Conseil du Département de Chimie – Faculté des Sciences – Université de Nantes **depuis décembre 2008**.

- Membre nommée du Comité de Sélection de la 32^{ème} section poste de maître de Conférence - Université de Nantes **depuis février 2009**.

C. INFORMATIONS SIGNIFICATIVES SUR LE DEROULEMENT DE LA CARRIERE

Mes activités de recherches depuis 2006 ont donc porté plus particulièrement sur l'ingénierie de sucres donneurs et accepteurs pour la synthèse enzymatique d'oligosaccharides et le développement de glycoconjugués d'intérêt thérapeutique et ont permis de développer de nouveaux outils enzymatiques adaptés à la synthèse d'oligosides d'intérêt thérapeutique. Au cours de cette période, j'ai encadré 6 Master 2 Recherche et co-dirigé une thèse. Ces travaux, et notamment ceux conduits au cours de la thèse d'E. LetrouBonneval, ont conduit à la rédaction d'un article et d'un brevet, ce dernier expliquant le faible nombre de publications sur cette période (2 articles sont actuellement en cours de rédaction).

Je tiens également à mentionner ici mon implication directe dans l'insertion professionnelle des doctorants et jeunes docteurs au travers de mon rôle de **correspondant de l'Association Bernard Grégory pour l'Université de Nantes**. Plusieurs missions me sont confiées à ce titre afin de favoriser l'insertion des Docteurs.

J'assure avant tout ma mission d'inscription au fichier national de la CVthèque de l'ABG pour tous les Docteurs des 9 ED du collège Doctoral nantais (et parfois d'autres universités) qui le souhaitent et seulement après entretien systématique et individuel du candidat afin de valoriser au mieux chaque CV avant son dépôt. J'accompagne individuellement les jeunes docteurs dans la construction de leur projet professionnel, la rédaction de leurs CV orientés vers le secteur non académique et les suis jusqu'à leur recrutement

Il s'agit également pour moi, dans le cadre de l'insertion professionnelle des Docteurs, de promouvoir les actions de l'ABG et de faire le lien entre les Doctorants de l'Université de Nantes (il y a plus de 1300 doctorants inscrits), le Collège Doctoral nantais, les entreprises de la Région, et l'ensemble des acteurs de l'insertion professionnelle des Docteurs au travers de différentes actions menées avec le soutien de l'ABG : Journées d'accueil des Doctorants, animation de modules professionnalisants auprès des ED, participation et organisation de Doctoriales, participation aux Entrepreneuriales, promotion et suivi du « Nouveau chapitre de la thèse », présentation de l'ABG aux associations de Doctorants, organisation des premières rencontres Entreprises-Ecoles Doctorales de Nantes le 2 juillet 2009 avec le MEDEF sur le thème « Pourquoi se priver des Docteurs ? ».