

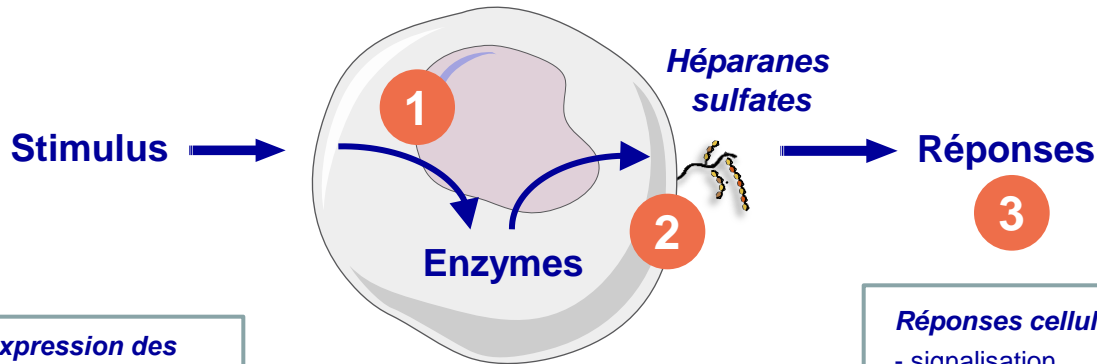
## Diversité des héparanes sulfates et réponse inflammatoire

### *Thématiques :*

- Spécificité des interactions héparanes sulfates / protéines inflammatoires
- Régulation de l'expression et de l'activité des enzymes de biosynthèse des héparanes sulfates
- Rôle des héparanes sulfates dans les réponses inflammatoires et immunes

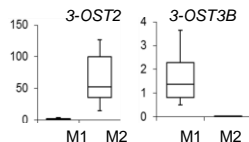
# Diversité structurale des héparanes sulfates

## Régulation de l'expression et de l'activité des héparanes sulfotransférases : approches expérimentales



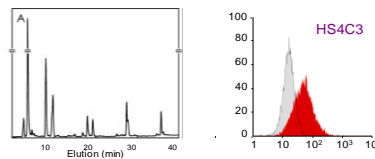
### Régulation de l'expression des enzymes de maturation des HS

- RT-qPCR, immuno-détection.
- régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle (signalisation,, gène reporter, miRNA...)



### Remodelage structural des HS

- composition en disaccharides
- cytofluorimétrie en flux
- spectrométrie de masse

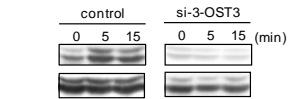


### Réponses cellulaires

- signalisation
- migration, prolifération; apoptose ...
- production de cytokines (Q-PCR, ELISA)
- cytotoxicité

### Corrélation entre remodelage des HS et réponses cellulaires

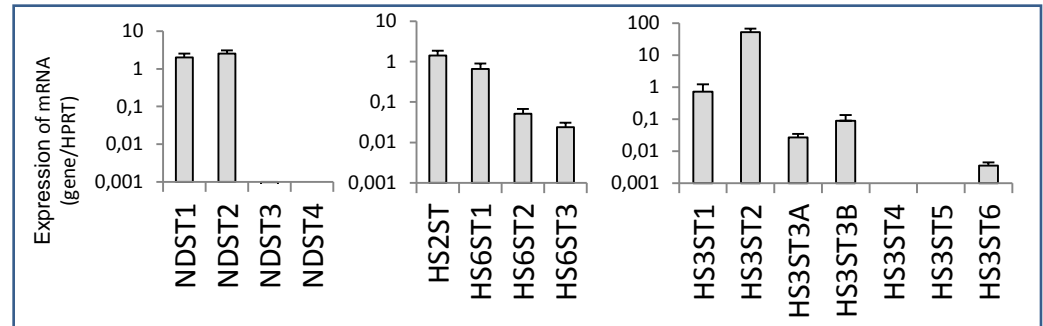
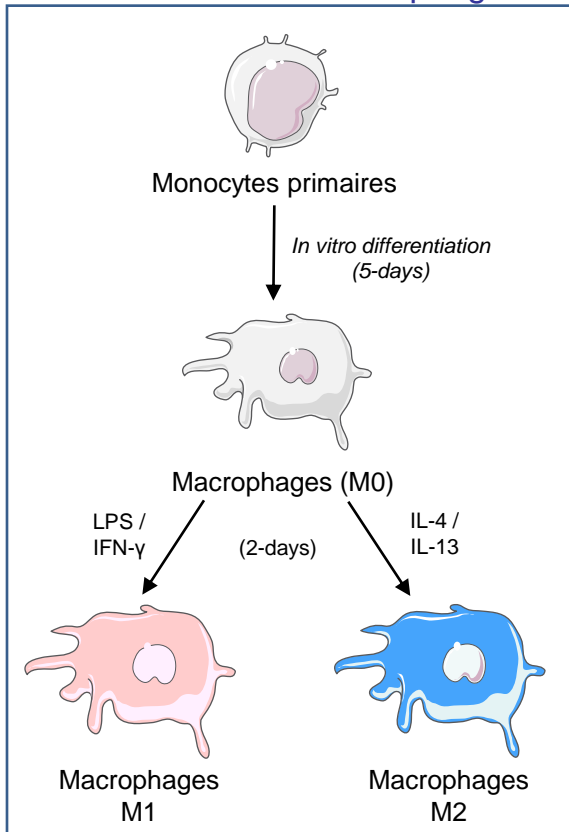
- inhibition par ARN interférence
- surexpression de formes actives



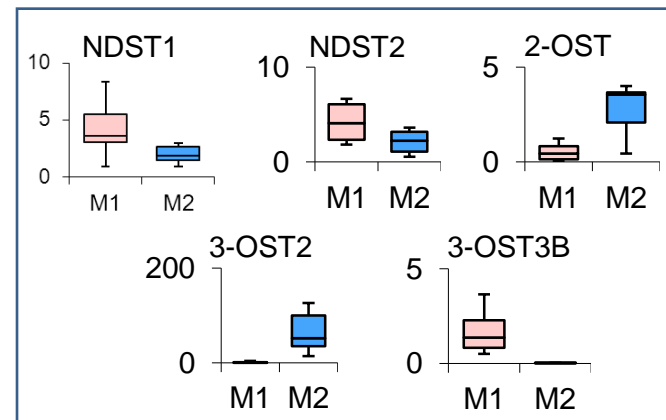
Activation de p44/p42 MAPK (CyPB)

# Remodelage des héparanes sulfates : l'exemple du macrophage

## Polarisation des macrophages



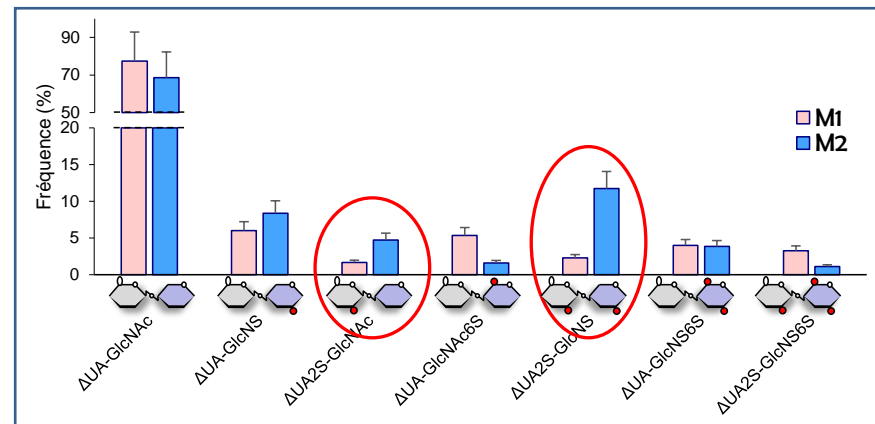
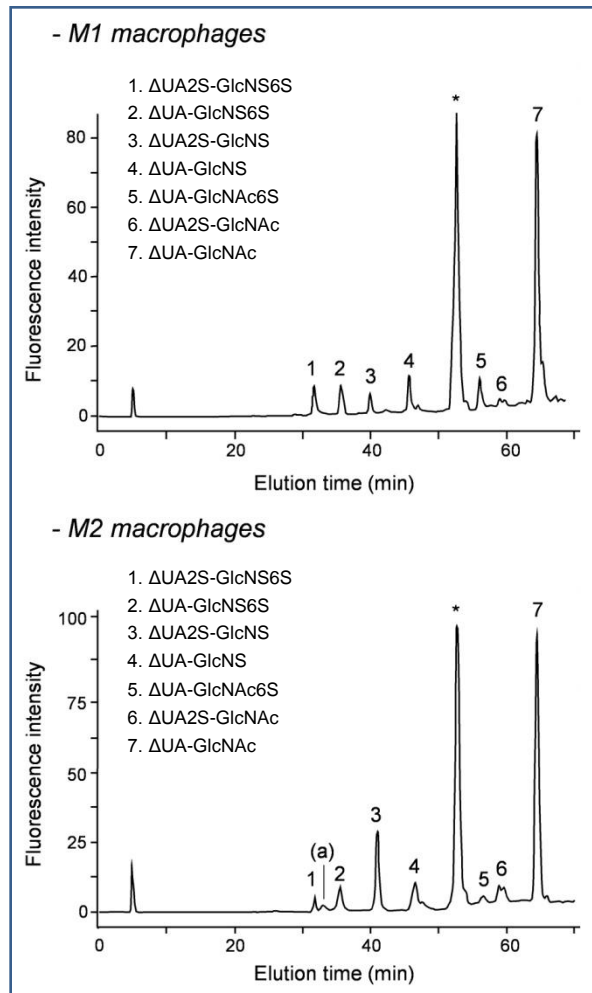
➤ Expression de 11 HS sulfotransférases dans les macrophages non polarisés



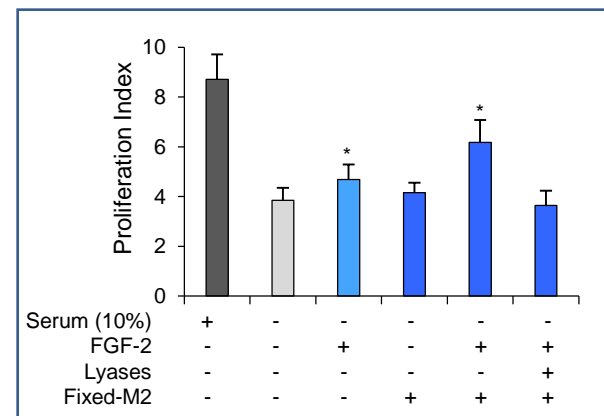
➤ L'expression des NDST1, NDST2, 2-OST, 3-OST2 and 3-OST3B est modifiée en réponse à la polarisation des macrophages.

# Remodelage des héparanes sulfates : l'exemple du macrophage

➔ Analyse disaccharidique des héparanes sulfates par RP-HPLC (dérivation AMAC)

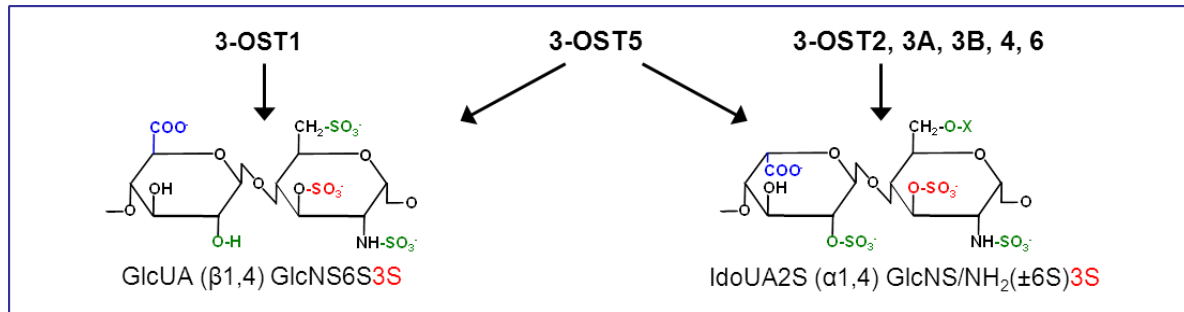


➔ Les HS des macrophages M2 présentent le FGF-2 aux cellules cancéreuses (MDA-MB-231)



# Régulation et fonctions de la 3-O-sulfatation

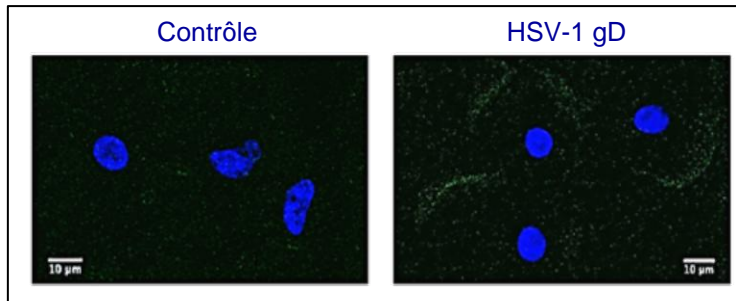
Sept isoenzymes : 3-OST1, 2, 3A, 3B, 4, 5, 6  
(HS3ST1, HS3ST2, HS3ST3A, HS3ST3B, HS3ST4, HS3ST5, HS3ST6)



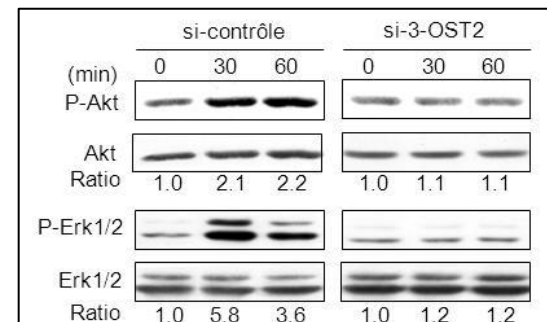
## 1. Implication des héparanes 3-O-sulfatés dans les réponses des macrophages à la protéine gD du virus HSV-1

- Importance de la 3-O-sulfatation des HS sur la signalisation des macrophages.
- Rôle des HS 3-sulfatés dans la susceptibilité des macrophages au HSV-1

Fixation de HSV-1 gD à la surface des macrophages



Rôle de la 3-OST2 dans les réponses induites par HSV-1 gD



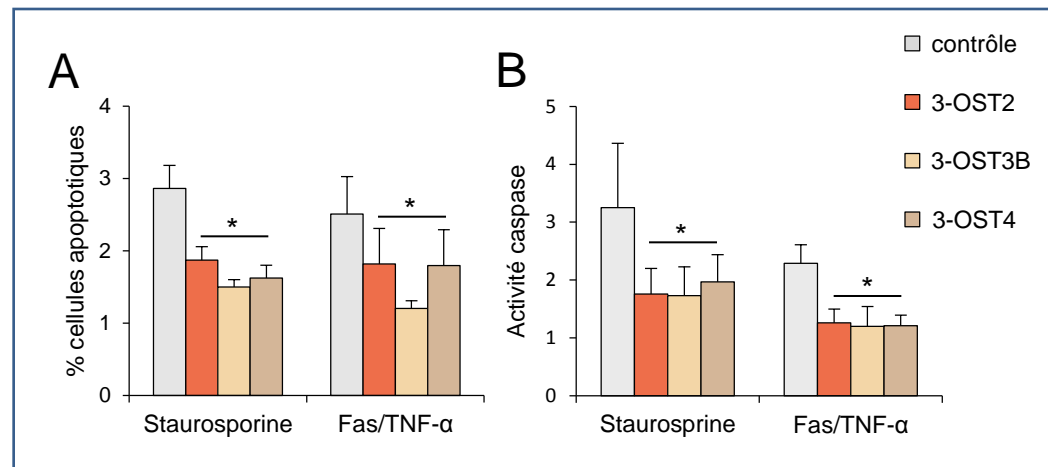
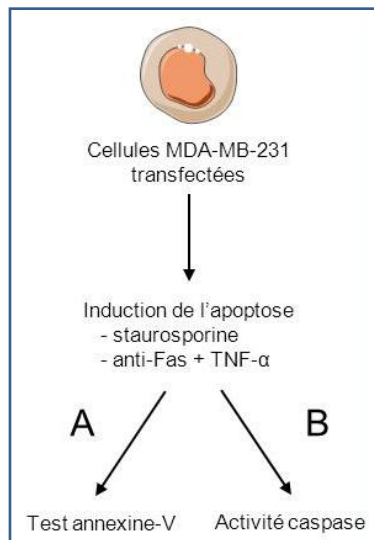
## Régulation et fonctions de la 3-O-sulfatation

### 2. Implication des héparanes 3-O-sulfatés dans l'échappement des cellules cancéreuses au système immunitaire

- Impact de la 3-O-sulfatation des HS sur la prolifération et la survie des cellules cancéreuses.
- Rôle des HS 3-sulfatés dans la communication entre cellules cancéreuses et système immunitaire.

Thèse de Charles HELLEC

- ➡ Surexpression des 3-OST2, 3-OST3B et 3-OST4 en cellules cancéreuses  
Analyse de la résistance des cellules transfectées à des agents pro-apoptotiques



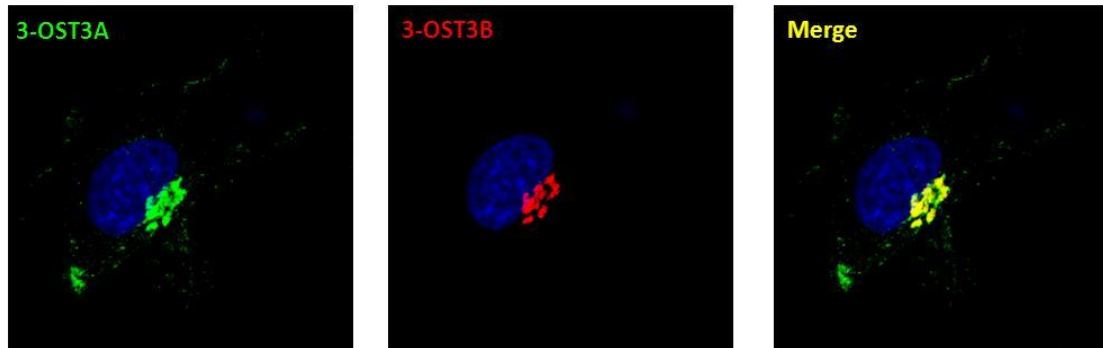
➡ La surexpression des 3-OSTs de type gD favorise la mise en place de mécanismes anti-apoptotiques

# Régulation et fonctions de la 3-O-sulfatation

## 3. Localisation subcellulaire des 3-OSTs

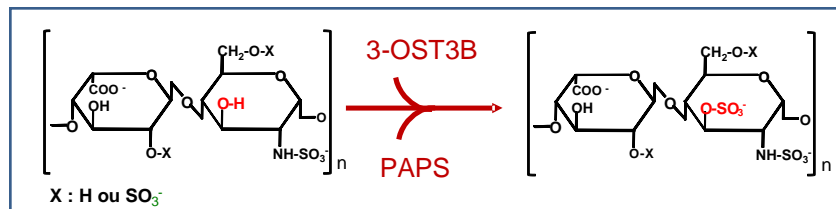
- Surexpression de formes *taggées* fluorescentes des 3-OST2, 3-OST3A et 3-OST3B.

Thèse de Maxime DELOS (collaboration avec François FOULQUIER, UGSF)



## 4. Analyse structurale des motifs héparanes 3-O-sulfatés

- Production de 3-OST3B recombinante et sulfatation in vitro :



- Analyse par spectrométrie de masse et spectrométrie vibrationnelle

Collaboration avec Régis DANIEL (LAMBE, CNRS-Université d'Evry) et Isabelle COMPAGNON (Institut Lumière/Matière, CNRS-Université Lyon I)