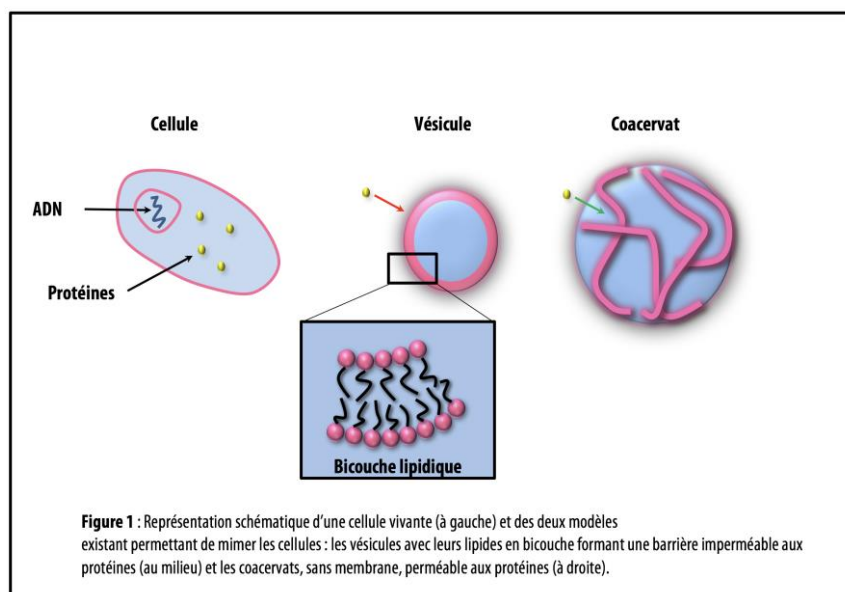


Communiqué de presse – 23 octobre 2017

La compartimentation de protéines et de l'ADN : une nouvelle voie vers des cellules synthétiques ?

Les cellules sont des compartiments au sein desquels se concentrent des biomolécules telles que les protéines et l'ADN, essentielles aux organismes vivants. Malgré de très forts enjeux en termes de santé humaine et animale, ou de connaissance des origines du vivant, la science n'est pas encore en mesure de produire des cellules vivantes synthétiques. En produisant de nouveaux « compartiments hybrides » permettant la séquestration de protéines et d'ADN à l'échelle cellulaire, des chercheurs de l'Inra, en collaboration avec l'université de Bordeaux et le CNRS¹, ouvrent de nouvelles perspectives scientifiques vers la production de cellules synthétiques. Leurs derniers résultats sont publiés le 23 octobre 2017 dans la revue *Angewandte Chemie International Edition*.

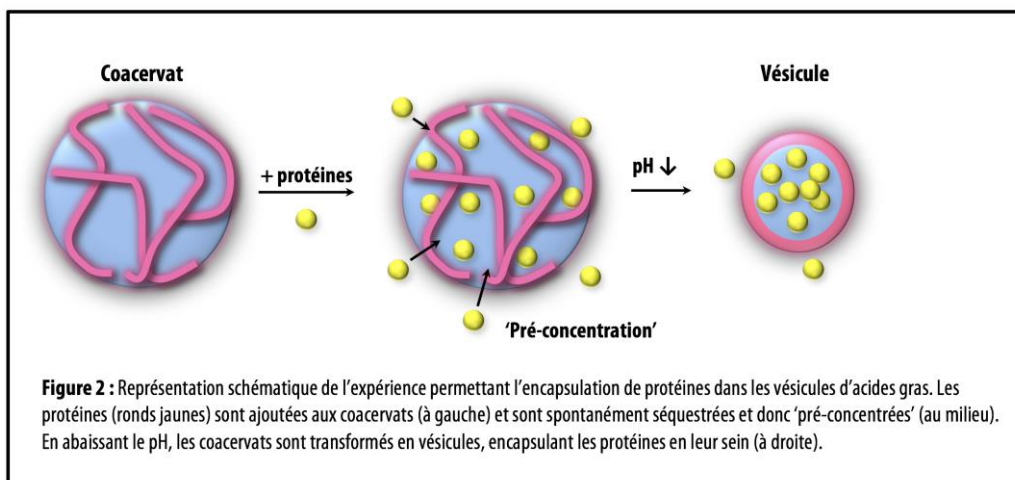
A ce jour, il existe deux modèles synthétiques permettant de mimer des cellules vivantes : les vésicules lipidiques et les coacervats². Les vésicules possèdent une membrane de lipides qui encapsule un volume d'eau et offrent ainsi une structure plus proche de celle des cellules naturelles (*figure 1*). Cependant, il est très difficile d'encapsuler les biomolécules, telles que l'ADN ou les protéines, à l'intérieur de ces vésicules. Les coacervats sont des gouttelettes riches en un composé chimique, par exemple un polymère, et représentent des compartiments de choix dans le sens où des biomolécules sont spontanément séquestrées à l'intérieur (*figure 1*). Cependant, les coacervats ne possèdent pas de membrane à leur surface, ce qui ne permet pas d'encapsuler ces biomolécules ni de contrôler les échanges entre milieux extérieurs et intérieurs.



¹ Sont impliqués dans ces travaux l'Unité Biologie du fruit et pathologie (Inra, université de Bordeaux), le Centre de recherche Paul Pascal (CNRS/Université de Bordeaux) et l'Institut de chimie et de biologie des membranes et des nanoobjets (CNRS/Université de Bordeaux/Bordeaux INP)

² A. J. Dzieciol, S. Mann, *Chemical Society Reviews*. Designs for life: protocell models in the laboratory 2012, 41, 79-85.

Dans des travaux récents, des chercheurs ont développé un système « hybride » formant des coacervats qui peuvent se transformer en vésicules par une simple diminution du potentiel hydrogène (pH)³. Comme ces coacervats peuvent séquestrer des biomolécules, les pré-concentrant dans ces compartiments, leur transformation en vésicules permet alors d'encapsuler ADN et protéines (*figure 2*).



Les scientifiques ont d'abord développé un système à base d'acides gras formant des coacervats en solution à pH 9,5 et ont montré que des molécules colorées pouvaient être séquestrées dans ces compartiments⁴. Ils ont ensuite prouvé que les systèmes d'acides gras peuvent aussi s'auto-assembler en vésicules à un pH plus faible (7,5)⁵. Il devenait alors possible de former des vésicules à partir de coacervats par une diminution du pH. Les scientifiques ont observé que des protéines étaient effectivement séquestrées dans les coacervats d'acides gras. Ceci a été mis en évidence par épifluorescence (en utilisant des protéines fluorescentes), mais également par chromatographie. Ils ont alors montré que, lors de la transition des coacervats vers les vésicules, les protéines initialement séquestrées étaient encapsulées dans les vésicules (*figure 3*).

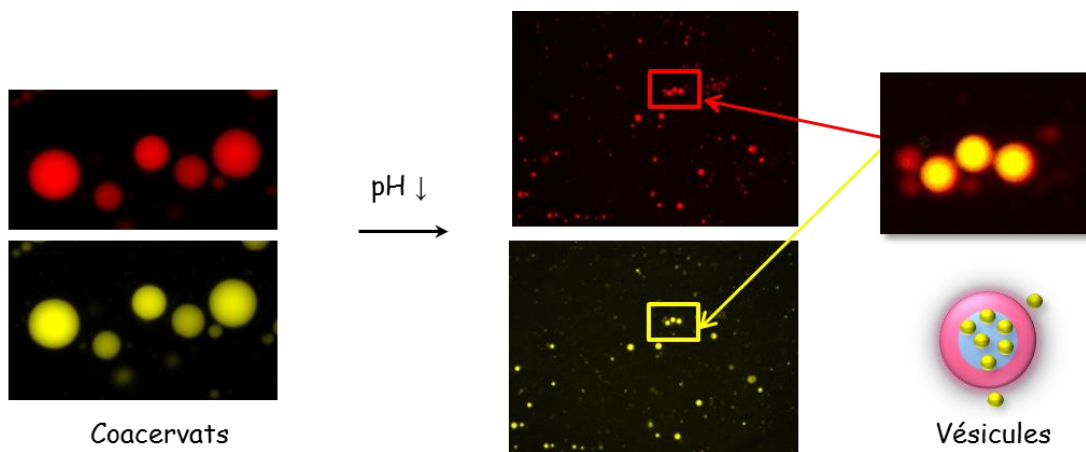


Figure 3 : Clichés des coacervats d'acides gras (à gauche, en rouge) obtenus en microscopie (par épifluorescence). Les ronds jaunes (20 μm) correspondent au signal des protéines (yellow fluorescent protein) et sont superposés au ronds rouges, ce qui confirme que ces protéines sont séquestrées dans les coacervats. En abaissant le pH, les coacervats sont transformés en vésicules (1-2 μm , à droite). Le signal des protéines (en jaune) est aussi superposé à celui des acides gras (en rouge).

³ D. Garenne, L. Beven, L. Navailles, F. Nallet, E. J. Dufourc, J.-P. Douliez, *Angewandte chemie internationale edition*. Sequestration of Proteins by Fatty Acid Coacervates for Their Encapsulation within Vesicles 2016, 55, 13475-13479.

⁴ D. Garenne, L. Navailles, F. Nallet, A. Grélard, E. J. Dufourc, J.-P. Douliez, *Journal of Colloid and Interface Science*. Clouding in fatty acid dispersions for charge-dependent dye extraction 2016, 468, 95-102.

⁵ J.-P. Douliez, B. Houinsou Houssou, A. L. Fameau, L. Navailles, F. Nallet, A. Grélard, E. J. Dufourc, C. Gaillard. Self-Assembly of Bilayer Vesicles Made of Saturated Long Chain Fatty Acids. *Langmuir* 2016, 32, 401-410.

Ils ont ainsi déterminé un taux d'encapsulation de l'ordre de 50 à 60 %, ce qui revient à concentrer 500 fois les protéines à l'intérieur des vésicules. Enfin, les chercheurs ont démontré que des enzymes peuvent être concentrées dans ces vésicules, tout en conservant leur activité. Ce système représente donc un premier pas vers la génération de cellules synthétiques dans le sens où des réactions enzymatiques se produisent en leur sein^[2]. Cependant, les coacervats d'acides gras ne permettent pas la séquestration spontanée d'ADN (ces deux entités, étant chargées négativement, se repoussent), ce qui représente un frein important dans l'élaboration de cellules synthétiques car l'ADN est un élément clé chez les êtres vivants.

Les chercheurs ont optimisé leur système en développant des coacervats d'acides gras combinés à des tensioactifs chargés positivement. Ils ont révélé que les protéines mais aussi l'ADN étaient séquestrés dans ces coacervats. Il restera par la suite à montrer que l'ADN peut également être encapsulé dans les vésicules en diminuant le pH. Ces résultats constituent un premier pas important vers l'élaboration future de cellules synthétiques. L'approche novatrice consiste à unifier les deux modèles existants que sont les vésicules et les coacervats en un système unique pouvant passer de l'un à l'autre, rassemblant ainsi les avantages des deux systèmes.

Référence :

Catanionic Coacervate Droplets as a Surfactant-Based Membrane-Free Protocell Model. Jean-Paul Douliez, Nicolas Martin, Cédric Gaillard, Thomas Beneyton, Jean-Christophe Baret, Stephen Mann, and Laure Beven. *Angewandte Chemie international edition*. **2017**, 56, pp 13689-13693.
DOI: 10.1002/anie.201707139

Contact scientifique :

Jean-Paul Douliez : jean-paul.douliez@inra.fr - 05 57 12 23 62
Unité Biologie du fruit et pathologie (Inra, université de Bordeaux)
Département Santé des plantes et environnement
Centre Inra Nouvelle-Aquitaine-Bordeaux

Contact presse :

Inra service de presse : presse@inra.fr – 01 42 75 91 86