



**HAL**  
open science

## La “ Permeability glycoprotein ” (P-gp) : un biomarqueur de la résistance cellulaire applicable en Santé & Environnement

Maxime Dubois, Antoine Goisnard, Pierre Daumar, Clémence Dubois, Elodie Gay, Marie Depresle, Manon Roux, Alexandra Massé, Frédérique Penault-Llorca, Emmanuelle Mounetou, et al.

### ► To cite this version:

Maxime Dubois, Antoine Goisnard, Pierre Daumar, Clémence Dubois, Elodie Gay, et al.. La “ Permeability glycoprotein ” (P-gp) : un biomarqueur de la résistance cellulaire applicable en Santé & Environnement. CNRIUT 2023 Saint Pierre - La Réunion, Jun 2023, Saint Pierre (La Réunion), France. hal-04364131

**HAL Id: hal-04364131**

**<https://hal.science/hal-04364131>**

Submitted on 26 Dec 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

---

## La « Permeability glycoprotein » (P-gp) : un biomarqueur de la résistance cellulaire applicable en Santé & Environnement

---

Maxime DUBOIS<sup>1</sup>, Antoine GOISNARD<sup>1</sup>, Pierre DAUMAR<sup>1</sup>, Clémence DUBOIS<sup>4</sup>, Elodie GAY<sup>1</sup>, Marie DEPRESLE<sup>4</sup>, Manon ROUX<sup>4</sup>, Alexandra MASSÉ<sup>5</sup>, Frédérique PENAULT-LLORCA<sup>2,3</sup>, Emmanuelle MOUNETOU<sup>1</sup> & Mahchid BAMDAD<sup>1\*</sup>

[maxime.dubois@uca.fr](mailto:maxime.dubois@uca.fr) [antoine.goisnard@uca.fr](mailto:antoine.goisnard@uca.fr) [pierre.daumar@uca.fr](mailto:pierre.daumar@uca.fr) [clemence.dubois@uca.fr](mailto:clemence.dubois@uca.fr)  
[elodie.gay@uca.fr](mailto:elodie.gay@uca.fr) [marie.depresle@uca.fr](mailto:marie.depresle@uca.fr) [manon.roux@uca.fr](mailto:manon.roux@uca.fr) [alexandra.masse@uca.fr](mailto:alexandra.masse@uca.fr)  
[Frederique.PENAULT-LLORCA@clermont.unicancer.fr](mailto:Frederique.PENAULT-LLORCA@clermont.unicancer.fr) [emmanuelle.mounetou@uca.fr](mailto:emmanuelle.mounetou@uca.fr) [mahchid.bamdad@uca.fr](mailto:mahchid.bamdad@uca.fr)

<sup>1</sup> IUT Clermont Auvergne, Université Clermont Auvergne  
Laboratoire Imagerie Moléculaire et Stratégies Théranostiques, UMR INSERM UCA 1240

<sup>2</sup> UFR Médecine et professions paramédicales, Université Clermont Auvergne  
Laboratoire Imagerie Moléculaire et Stratégies Théranostiques, UMR INSERM UCA 1240

<sup>3</sup> Centre de Lutte contre le Cancer Jean Perrin, Clermont-Fd

<sup>4</sup> BIOMARQUEURS SAS, IUT Clermont Auvergne, Université Clermont Auvergne

<sup>5</sup> BIOPASS SAS, IUT Clermont Auvergne, Université Clermont Auvergne

\* Corresponding auteur

### Thèmes –Biologie - Santé

**Résumé** – La « Permeability glycoprotein » (P-gp) est un transporteur membranaire de phénotype « Multidrug Resistance ». Très ubiquitaire et extrêmement conservée au cours de l'évolution, cette protéine est exprimée à l'état naturel dans pratiquement tous les organismes vivants, de procaryotes aux mammifères. La P-gp est une pompe d'efflux membranaire à rôle détoxificateur qui reconnaît, cible et expulse une multitude de xénobiotiques tels que les polluants et les médicaments de structures et de propriété très variées, de l'intérieur vers l'extérieur des cellules. Il s'agit d'un mécanisme de défense naturelle à l'échelle cellulaire qui est induite par une augmentation de l'expression de la P-gp au niveau des cellules agressées. Ce changement d'expression de la P-gp, signe d'agression cellulaire est détectable et quantifiable par le nouveau traceur fluorescent et innovant, LightSpot FL1. De par cette propriété, la P-gp peut représenter un excellent biomarqueur de la résistance cellulaire, exploitable dans les domaines de la Santé (cancérologie, virologie) et Environnement.

**Mots-Clés** : P-gp, Biomarqueur, Résistance cellulaire, Santé/Environnement.

## 1 Introduction

Les travaux de R&D exposés sont réalisés au sein du consortium BIORCELL3D® <https://biorcell-3d.com/>. Il s'agit d'un partenariat public/privé, initié en 2016, entre le groupe « Résistance » de l'équipe RoBUST de l'UMR 1240 INSERM-UCA Imagerie Moléculaire et Stratégies Théranostiques (IMoST) de l'Université Clermont Auvergne et les deux sociétés BIOPASS SAS et BIOMARQUEURS SAS (RIOM, 63). Le consortium BIORCELL 3D est localisé actuellement dans le laboratoire de Recherche du groupe « Résistance » de l'équipe IMoST, situé au département Génie Biologique de l'IUT Clermont Auvergne (63). De la Recherche fondamentale à la Recherche finalisée, avec valorisation et transfert, nous développons des outils de biotechnologie innovants appliqués à la Santé. En effet, par des approches d'ingénierie cellulaire, de pharmacomodulation et de synthèse chimique, le consortium a développé (i) des modèles de tumeurs artificielles® en microplaques [1] (sein, ovaire, prostate, poumon ...) et des organoïdes (poumon, épithélium...) dans (ii) un milieu de culture synthétique et contrôlé intitulé OptiPASS® [1-2], (iii) des concepts originaux de conservation de cultures à long-terme [2], (iv) des traceurs fluorescents LightSpot® indicateurs de la résistance tumorale et biomarqueurs environnementaux [3-4] (v) des anticancéreux ciblés fluorescents PARPI®, marqueurs de l'efficacité des traitements (<https://biorcell-3d.com/>). L'objectif étant la conception et le développement d'outils précliniques appliqués à la Santé sous un format de produits finis tels que des Kits de diagnostic in-vitro et des prestations de service, permettant la valorisation par brevets et un transfert à nos partenaires industriels, pour une production à grande échelle. Actuellement une partie de nos produits finis est mise sur le marché et distribuée par la firme « DUTSCHER » (<https://www.dutscher.com/>).

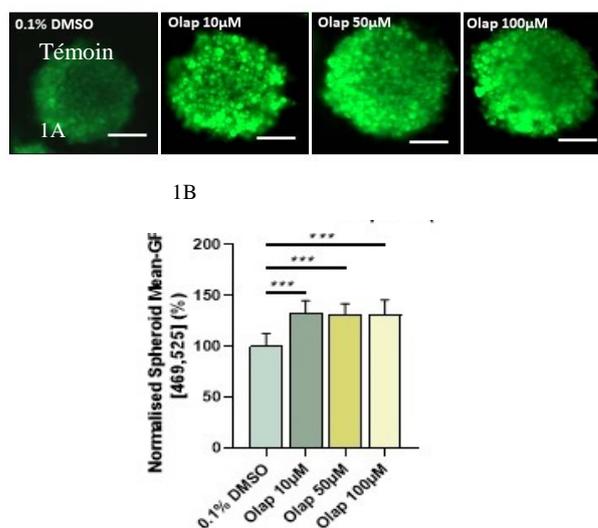
## 2 La P-gp un biomarqueur ubiquitaire de la résistance cellulaire

La « Permeability glycoprotein » ou la P-gp, codée par le gène *mdr1/abcb1* représente la protéine « Multidrug Resistance » (MDR) de référence. Très ubiquitaire, elle est exprimée naturellement au niveau de la membrane cellulaire de quasiment tous les organismes vivants (de bactérie à l'homme) [4, 5]. La P-gp est une pompe d'efflux membranaire à rôle détoxificateur qui reconnaît, cible et expulse de l'intérieur vers l'extérieur des cellules, une multitude de xénobiotiques de structures et de propriété très variées (médicaments et polluants, entre autres). Il s'agit d'un mécanisme de défense naturelle à l'échelle cellulaire. Son action est induite par une

augmentation de son expression au niveau des cellules agressées, engendrant ainsi la préservation des cellules à l'encontre de l'action cytotoxique des xénobiotiques. Ce changement d'expression de la P-gp, témoin d'agression cellulaire est détectable et quantifiable. De par cette propriété, la P-gp peut représenter un excellent biomarqueur de la résistance cellulaire, exploitable dans les domaines de la Santé (cancérologie, virologie) et Environnement.

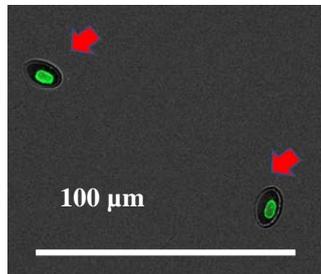
### 2.1 La P-gp un biomarqueur de la résistance des cellules tumorales contre les anticancéreux

L'un des axes majeurs de développement du consortium BIORCELL3D® est le développement des **modèles de cultures cellulaires en trois dimensions** (3D) intitulés **tumeurs artificielles®** à partir des lignées cellulaires issues de différents types de cancer, comme le cancer du sein. Ces modèles de tumeurs avasculaires miment fidèlement les conditions du *vivo* et permettent d'étudier l'efficacité de différentes conditions de traitement [1-2]. Par ailleurs, nous avons également développé de **nouvelles classes de traceurs fluorescents innovants**, intitulés **LightSpot® qui ciblent sensiblement spécifiquement la P-gp** [3-4]. Ces derniers, produits au sein de notre groupe de R&D par des voies de synthèse organique multi-étapes, sont de **faible poids moléculaire** et sont capables de **pénétrer dans une masse cellulaire**. La preuve de concept de la détection et de la quantification spécifique de la P-gp par l'un de ces traceurs intitulé « LightSpot® FL1 » a déjà été démontrée sur plusieurs lignées cellulaires du cancer du sein triple négatif, notamment sur la lignée SUM1315 en culture cellulaire en monocouche (2D) et en trois dimensions (3D) [3].



**Figure 1** : Taux d'expression de la P-gp dans des modèles de cultures cellulaires 3D de la lignée SUM1315 de cancer du sein triple négatif, en présence des doses croissantes de l'Olaparib (Olap) un anticancéreux ciblé. 1A : marquage de la P-gp par LightSpot FL1 (couleur verte).

La preuve de concept du potentiel de traceur LightSpot® FL1 de quantifier l'augmentation de l'expression de la P-gp, sur des modèles de culture cellulaire du cancer du sein en 2D et 3D, après l'exposition à des concentrations croissantes d'un anticancéreux ciblé l'Olaparib® a également été confirmée (Figure 1A, B) [3].



**Figure 2 :** Marquage de la P-gp des globules rouges de truite *fario* avec LightSpot FL1 (marquage vert).

### 2.1 La P-gp un biomarqueur potentiel de la pollution de l'eau

Le potentiel du développement d'un « biomarqueur sentinelle » à partir du taux d'expression de la P-gp en réponse à la pollution de l'eau a déjà été exploré par notre groupe, sur le modèle de globules rouges nucléés de la truite *fario* [8-9]. En effet, le sang est le point d'intersection et de passage de nombreuses molécules physiologiques, mais également de différents xénobiotiques, tels que les médicaments et les polluants. De par cette propriété, les modifications du taux d'expression la P-gp des globules rouges nucléés de poisson peuvent être exploitées pour développer un biomarqueur de type « résistance/stress », en réponse à la pollution d'eau. C'est notamment sur ce principe que le « Biomarqueur Sentinelle » a été développé à partir du sang de truite *fario* et la preuve de concept a été démontrée au laboratoire et sur le terrain dans différentes rivières de la Région AURA [8-9]. Cependant la méthodologie utilisée jusqu'à maintenant pour l'exploitation du Biomarqueur Sentinelle était lourde et relativement coûteuse. C'est pourquoi suite à l'émergence des traceurs LightSpot®, notre groupe a entamé des travaux de R&D pour développer une nouvelle génération de Biomarqueur Sentinelle à l'aide des traceurs LightSpot®. A l'heure actuelle la preuve de concept est en cours de développement à l'aide du traceur LightSpot FL1 sur le sang de truite *fario* (Figure 2).

### 3 Conclusions

Le caractère très ubiquitaire de la P-gp, exprimée chez tous les organismes vivants, ainsi que sa détection et sa quantification *via* les traceurs innovants LightSpot® rend très pertinent et élargie considérablement son champ

d'exploitation, en tant que Biomarqueur Résistance/Stress. Ce potentiel est actuellement utilisé au sein de notre groupe afin de développer des tests de diagnostic *in-vitro* appliqués dans le domaine de la Santé notamment en ciblant trois axes majeurs en Cancérologie, en Environnement et en Virologie. Sur ce dernier point, des tests de résistance aux antiviraux sont en cours de développement sur des modèles de micro-tissus.

### 4 Références

- [1] Dubois C; Daumar P, Aubel C, Gauthier J, Vidalinc B, Mounetou E, Penault-Llorca F, Bamdad, M. The New Synthetic Serum-Free Medium OptiPASS Promotes High Proliferation and Drug Efficacy Prediction on Spheroids from MDA-MB-231 and SUM1315 Triple-Negative Breast Cancer Cell Lines. *Journal of Clinical Medicine Research* 2019, 8, 397, doi:10.3390/jcm8030397.
- [2] Goisnard A, Dubois C, Daumar P, Aubel C, Depresle M, Gauthier J, Vidalinc B, Penault-Llorca F, Mounetou E, Bamdad M. The New Serum-Free OptiPASS® Medium in Cold and Oxygen-Free Conditions: An Innovative Conservation Method for the Preservation of MDA-MB-231 Triple Negative Breast Cancer Spheroids. *Cancers (Basel)*. 2021 Apr 18;13(8):1945. doi: 10.3390/cancers13081945
- [3] Goisnard A, Daumar P, Dubois C, Aubel C, Roux M, Depresle M, Gauthier J, Vidalinc B, Penault-Llorca F, Mounetou E, Bamdad M. LightSpot®-FL-1 Fluorescent Probe: An Innovative Tool for Cancer Drug Resistance Analysis by Direct Detection and Quantification of the P-Glycoprotein (P-gp) on Monolayer Culture and Spheroid Triple Negative Breast Cancer Models. *Cancers*. 2021 Aug 11;13(16):4050. doi: 10.3390/cancers13164050.
- [4] Bamdad, M.; Daumar, P.; Gauthier, J.; Goisnard, A.; Dubois, C.; Mounetou, E.; Penault-Llorca, F.; Vidalinc, B. LightSpot Patent - (04 Octobre 2019) Université Clermont Auvergne/INSERM/BIOMARQUEURS/BIOPASS - N° FR1911035 -PCT/EP2020/077694 Du 02/10/2020.
- [5] Robey RW, Pluchino KM, Hall MD, Fojo AT, Bates S.E, Gottesman MM. Revisiting the Role of ABC Transporters in Multidrug-Resistant Cancer. *Nat Rev Cancer* 2018, 18, 452–464, doi:10.1038/s41568-018-0005-8.
- [6] Vache C, Camares O, Cardoso-Ferreira MC, Dastugue B, Creveaux I, Vaury C, Bamdad M. A Potential Genomic Biomarker for the Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Pollutants: Multidrug Resistance Gene 49 in *Drosophila Melanogaster*. *Environ. Toxicol. Chem.* 2007, 26, 1418–1424.
- [7] Bamdad M, Brousseau P, Denizeau F. Identification of a Multidrug Resistance-like System in *Tetrahymena Pyriformis*: Evidence for a New Detoxication Mechanism in Freshwater Ciliates. *FEBS Lett.* 1999, 456, 389–393.
- [8] Valton E, Wawrzyniak I, Amblard C, Combourieu B, Bayle ML, Desmolles F, Kwiatkowski F, Penault-Llorca F, Bamdad M. P-gp Expression Levels in the Erythrocytes of Brown Trout: A New Tool for Aquatic Sentinel Biomarker Development. *Biomarkers* 2017, 22, 566–574, doi:10.1080/1354750X.2017.1338314.
- [9] Bamdad M, Valton E & Amblard C (09 décembre 2011) Biomarqueurs moléculaires sentinelles. Brevet Sentinelle UCA n° FR2983871.