Normandie Université

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

Préparée au sein de l'Université de Rouen Normandie

Impact du microbiote intestinal sur la SUMOylation des protéines intestinales

Présentée et soutenue par
CHAIMA EZZINE

Thèse à caractère confidentiel soutenue le 27/11/2021 devant le jury composé de		
M. GUILLAUME BOSSIS	DIRECTEUR DE RECHERCHE, UNIVERSITE DE MONTPELLIER	Rapporteur du jury
MME VALERIE LALLEMAND-BREITENBACH	DIRECTEUR DE RECHERCHE, COLLEGE DE FRANCE	Rapporteur du jury
MME NATHALIE ROLHION	CHARGE DE RECHERCHE, SORBONNE UNIVERSITE	Membre du jury
M. PIERRE DECHELOTTE	PROFESSEUR DES UNIV - PRATICIEN HOSP., Université de Rouen Normandie	Président du jury
M. DAVID RIBET	CHARGE DE RECHERCHE, Université de Rouen Normandie	Directeur de thèse

Thèse dirigée par DAVID RIBET, NUTRITION, INFLAMMATION ET DYSFONCTION DE L'AXE INTESTIN-CERVEAU

UNIVERSITÉ DE ROUEN NORMANDIE

ED 497 NBISE
Normande de Biologie Intégrative, Santé, Environnement

Inserm
La science pour la santé | From science to health
UMR 1073

Sans la curiosité de l'esprit, que serions-nous ? Telle est bien la beauté et la noblesse de la science : désir sans fin de repousser les frontières du savoir, de traquer les secrets de la matière et de la vie sans idée préconçue des conséquences éventuelles.



Marie Curie
Physicienne, Scientifique (1867 - 1934)

Remerciements

Je remercie le **Professeur Pierre Déchelotte**, directeur du laboratoire INSERM UMR 1073 pour m'avoir accueillie dans son établissement ces 4 dernières années. Je le remercie pour sa grande gentillesse et pour m'avoir placé dans des conditions de travail aussi exceptionnelles.

Je remercie chaleureusement, mon directeur de thèse, **Docteur David Ribet**, à qui les mots ne suffisent pas pour exprimer ma grande gratitude et reconnaissance à son égard. Je le remercie pour la confiance qu'il m'a accordée durant ces 3 ans et pour son encadrement de très grande qualité. Sa bienveillance, sa motivation professionnelle, ses qualités exceptionnelles tant sur le plan professionnel qu'humain, m'ont permis de m'épanouir pleinement dans mon travail, de progresser et d'apprendre à être plus autonome tout au long de ce travail de recherche. Je le remercie pour le temps et les efforts qu'il a consacré à la réalisation de ce projet, pour ses précieux conseils scientifiques, sa patience, son grand soutien et surtout de m'avoir aidé à surmonter cette fin de thèse. Merci David de savoir me transmettre la passion et la curiosité scientifique qui te caractérise ! Je pense que je n'aurais jamais un chef aussi merveilleux que toi mais surtout qui fait des excellentes pâtisseries comme les tiennes !

Je remercie le **Professeur Ronan Thibault**, le **Docteur Nathalie Rholion** et le **Docteur Christelle Delalande - Lecapitaine** pour nos discussions lors de mon comité de suivi de thèse.

Merci au **Docteur Rholion** d'avoir accepté à nouveau d'évaluer mon travail en acceptant d'être examinatrice.

J'adresse mes remerciements à l'ensemble des membres du jury : le **Docteur Valérie Lallemand-Breitenbach**, le **Docteur Guillaume Bossis**, et le **Professeur Pierre Déchelotte**, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger mes travaux de thèse.

Cette thèse a été rendue possible grâce à l'école doctorale Normande de Biologie intégrative, Santé, Environnement, de l'Université de Rouen Normandie. Je souhaite tout particulièrement exprimer ma grande gratitude à tous les membres passés et présents de l'**équipe UMR1073**. C'est avec le cœur gros que je vous adresse ces mots.

Au **Professeur Moïse Coëffier**, je le remercie pour sa gentillesse, sa disponibilité, sa bonne humeur, son expertise scientifique et en particulier pour ses précieux commentaires et ses précieuses remarques durant cette thèse.

Au **Docteur Rachel Marion-Letellier**, source de bonnes énergies et de joie. Je la remercie pour sa gentillesse extrême, sa disponibilité, sa bonne humeur et surtout pour son rire communicatif.

Au **Docteur Jonathan Breton**, mon ancien ‘’co-équipier’’, je le remercie pour sa grande gentillesse, son grand soutien, sa bonne humeur, pour toutes nos discussions scientifiques, ses conseils bienveillants et son aide précieuse depuis mon arrivée au labo. Je te souhaite le meilleur succès dans tes projets. Je suis sûre qu'un grand avenir t’attend.

Au **Docteur Najate Achamrah**, une personne extraordinaire ! Je la remercie pour son grand cœur, sa grande générosité, son extrême gentillesse. Merci de m’avoir aidé pendant ces années. Je te serais toujours reconnaissante !

Aux plus brillantes des docteurs : **Docteurs Wafa Bahlouli** et **Asma Amamou**, un très grand merci pour être toujours à mes côtés depuis mon arrivée au labo. Je vous remercie pour toute l’écoute et le réconfort que vous m’avez apporté pendant toutes ces années !! Quel bonheur de vous avoir rencontré ! Merci de m’avoir toujours soutenue et encouragée et pour votre aide précieuse ! Merci **Wafa** pour tous les bons moments pleins de fous rires et tous les beaux souvenirs passés ensemble ! Merci **Asma** d’être toujours présente pour moi pendant mes derniers mois de thèse, pour ta bienveillance, ton soutien et tes petits messages de réconfort. Je vous souhaite toute les deux une vie pleine de bonheur et de réussite !

A **Christine Bôle-Feysot**, **Charlène Guérin**, **Sylvie Martins** et **Sabine Douville** qui se sont montrées très accueillantes à mon égard, ce qui a sans doute facilité mon intégration dans l’unité. Je vous remercie de savoir toujours garder une merveilleuse ambiance de l’U1073. Merci, pour toute la bienveillance, la grande gentillesse et la tendresse dont vous avez fait preuve à mon égard. Vous avez toute ma gratitude. **Christine** je te remercie énormément pour ton aide précieuse pendant ces derniers mois, je te serais toujours reconnaissante ! Un merci particulier pour **Charlène** pour tes petits mots de soutien qui m’ont fait du bien.

Au **Docteur Alexis Goichon**, je le remercie pour sa grande gentillesse et ses qualités humaines d’écoute. Merci pour ta disponibilité et pour nous faciliter le quotidien !

A **Colin Salaun**, un brillant futur docteur ! On peut dire qu’on a commencé l’aventure ensemble ! J’ai eu le bonheur de t’assister pendant ton Master 1 et de te voir aujourd’hui en thèse ! Je te remercie pour tes encouragements, ta gentillesse et tes remarques enrichissantes.

Ta curiosité scientifique et surtout ton sens de l'humour particulier vont beaucoup me manquer. Bon courage !

A **Mathilde Leboutte**, je te remercie pour ta bonne humeur, tes encouragements, toutes tes attentions qui apaisent le stress, ton écoute, ta gentillesse extrême. Je te souhaite plein succès dans ton projet de thèse, et je ne doute pas de ta réussite.

A **Candice Lefebvre** et **Adrien Noel**, futurs Docteurs vous aussi, je vous remercie pour votre gentillesse et vos encouragements. Je vous souhaite une belle continuation et un avenir plein de réussite.

L'ambiance n'est évidemment plus la même depuis vos départs, Docteurs **Emmeline Salameh**, **Clément L'Huillier**, **Pauline Tirelle**, **Manon Dominique**, **Marie Galmiche**. Elle est peut-être plus studieuse maintenant ! Je garde un très bon souvenir de tous ces moments passés ensemble !

A **Marine Jarbeau**, la plus adorable des licornes, merci pour les litres de TBST que tu as cachés pour moi, pour tous les beaux moments qu'on a partagés, les rigolades, les fous rires et les petites soirées à Vixen sans oublier bien-sûr les bonnes poutines qu'on a partagées !

A **Alice Beau**, je la remercie pour sa grande gentillesse, pour notre petite aventure à Lille et beaucoup d'autres moments passés ensemble ! Je te souhaite plein de succès dans ta future carrière et bonne chance.

Je remercie en particulier les membres de notre petite équipe ''The dream team'' :

A **Robin**, quel plaisir j'ai eu durant nos longues discussions scientifiques et personnelles, sur nos attentes de la vie, sur chacun de nous, sur tout ! Je te remercie pour toutes tes attentions précieuses, ton grand soutien, ton écoute, ta sincérité et tous les moments partagés au labo ou ailleurs. Je te souhaite un très bon courage pour cette dernière ligne droite vers la fin de thèse.

A **Léa Loison et Morgan Le Rouzic**, brillantes étudiantes que j'ai eu le bonheur et la chance d'assister. Cela a été un véritable plaisir de pouvoir partager une partie de ce projet avec vous ! Merci à toutes les deux pour votre spontanéité, votre sincérité, votre bonne humeur et l'aide que vous m'avez apporté pendant ces derniers mois de thèse. **Léa**, je te remercie pour ta sérénité, ton enthousiasme au quotidien, tes encouragements, ton écoute et ta grande gentillesse. Tu as été d'un grand réconfort tant de fois. Bon début de thèse ! je n'ai aucun doute que tu vas exceller ! **Morgan**, un grand merci pour ces 6 mois passés ensemble, ta persévérance, ton aide précieuse. Je te souhaite de t'accomplir scientifiquement et professionnellement.

A ma famille :

A **mes très chers parents**, à qui je dois mon succès, aucun mot pourrait témoigner à votre égard tout l'amour inconditionnel, toute la gratitude et la reconnaissance que je vous porte. Vous m'avez laissée faire mes propres choix d'études, tant dans le domaine que dans le lieu. Merci d'avoir accepté mes choix sans doute, ni craintes. Merci de marcher à mes côtés tout au long de ces longues années d'étude et de tant me donner. Je vous remercie pour votre affection, votre soutien sans faille et de m'avoir toujours encouragée à donner le meilleur de moi-même. Merci pour vos innombrables sacrifices qui m'ont permis d'en arriver là. Merci d'être les meilleurs parents qu'une fille puisse avoir. Merci pour tout, tout simplement. Je vous aime et vous me manquez tellement ! J'espère que j'ai été et que je serais toujours à la hauteur de vos espérances.

A **mon âme-sœur, Mohamed,** pour qui ma réussite a toujours été primordiale. Merci de croire en moi, de m'encourager à arriver au-delà de mes rêves et de me toujours faire confiance. Merci d'être toujours présent pour entendre, comprendre et m'aider à rendre positifs mes nombreux doutes et questionnements. Merci pour ton soutien sans faille, tes sacrifices, ton rire, et surtout pour le grand amour et le bonheur que tu m'apportes au quotidien. Loin des yeux mais à jamais près du cœur…

À **ma très chère sœurette Chahd** pour son soutien et son affection, je te souhaite tout le bonheur du monde et j'espère que ton rêve de devenir la meilleure styliste du monde se réalisera, je t'aime et je serais toujours là à tes cotés.

A **mes très chers Karim, Hajer, mes merveilleux jumeaux Adam et Feres et la belle Zahra** qui réjouissent mes jours, je vous remercie pour votre soutien, vos encouragements constants et tout l'amour que vous me portez.

A **mes Tantes, Hela, Faten, Fatma, Turkia** qui ont fait preuve de solidarité et qui m'ont tout le temps entouré de tendresse et d'amour. Je vous aime mes chères tatas.

A **Ines, Nizar, la petite championne Camilia et la plus belle des princesses Layane**, vous êtes devenus la famille que je n'ai pas ici ! Je vous remercie de me combler avec votre gentillesse et d'être toujours à mes côtés depuis mon arrivée en France. Merci pour tous les beaux moments et les fous rire qu'on a partagé ensemble ! Je vous aime !

Aux **Docteurs Yasmine Souissi** et **Imen Smida**, mes anciennes cheffes à qui je dois une grande partie de ma réussite. Sans vous, rien n'aurait été possible.

Grâce à votre soutien, à vos encouragements et surtout à l'aide précieuse de **Dr Smida**, je suis arrivée à réaliser mon rêve de devenir docteur. Je vous serais toujours reconnaissante ! Merci !

A **tous mes amis** que j'adore, qui ont immensément contribué à mon parcours, en me donnant le moral **Oumayma, Marwa, Marouane, Marwa** et en particulier **Olfa** avec qui j'ai tant partagé depuis son arrivée en France. Notre amitié s'est construite au fil des années. Malgré les chemins différents que nous avos suivi, je suis contente que l'on ait su protéger notre amitié et que l'on s'appelle encore, même si ne ce n'est pas souvent, pour partager nos joies et nos moments difficiles. J'espère que nous continuerons à être présents les uns pour les autres pour toujours. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite tant sur le plan professionnel que personnel.

Sommaire

Liste des figures et des tableaux **1**
Glossaire **3**
Résumé **5**
Abstract **6**
Introduction générale **7**
I. Les modifications post-traductionnelles **8**
1. L'ubiquitination 8
2. Les MPTs de type ubiquitine 11
II. La SUMOylation **12**
1. Les isoformes de SUMO 13
2. La machinerie de SUMOylation 14
3. Les DéSUMOylases 16
4. Les motifs consensus SUMO 17
5. Conséquences de la SUMOylation 18
6. Exemple de fonctions de la SUMOylation 19
6.1 SUMO et régulation de la transcription 19
6.2 SUMOylation et réparation de l'ADN 20
6.3 SUMOylation et réponse aux stress 20
6.4 Implication de la SUMOylation dans les pathologies humaines 22
III. SUMOylation et inflammation intestinale **24**
1. SUMOylation et renouvellement de l'épithélium intestinal 25
2. SUMOylation et Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin 26
3. SUMO et bactéries entéropathogènes 31
IV. Le microbiote intestinal **34**
1. Définition et généralité 34
2. Composition et diversité 35
3. Développement et évolution du microbiote intestinal 36
4. Les principaux rôles du microbiote intestinal 38
4.1 Effet barrière et protection contre les agents pathogènes 39
4.2 Rôle du microbiote dans l'homéostasie de la muqueuse intestinale 40
4.3 Fonctions métaboliques du microbiote 41

5. Les SCFA 43
5.1 Diffusion des SCFA dans les cellules intestinales 44
5.2 Voies de signalisation induites par les SCFA 45
5.3 SCFA et régulation de l'inflammation 46
6. Les BCFA 50
Objectifs de la thèse 55
Résultats 57
Discussion 96
Conclusion 111
Références bibliographiques 113
Annexes 139

Liste des figures et des tableaux

Figure 1. Diversité des modifications post-traductionnelles. 8
Figure 2. La machinerie d'ubiquitination. 9
Figure 3. Comparaison entre les protéines SUMO et l'ubiquitine…….....13
Figure 4. Spécificité de conjugaison d'une protéine cible à SUMO1 ou SUMO2/3……..14
Figure 5. La machinerie de SUMOylation……15
Figure 6. Sites consensus de conjugaison à SUMO1 et SUMO2/3..... 17
Figure 7. Conséquences de la SUMOylation d'une protéine cible.. 18
Figure 8. Les différentes catégories de protéines ciblées par la SUMOylation. 19
Figure 9. Les différents mécanismes d'inhibition de la transcription par SUMO..... 19
Figure 10. Modulation indirecte de la SUMOylation par les ROS……...…22
Figure 11. Inhibition de la SUMOylation dans les cellules tumorales de leucémie myéloïde aiguë (LMA). 23
Figure 12. Structure schématique d'une villosité intestinale et d'une crypte associée.... 25
Figure 13. Rôle de la SUMOylation dans la prolifération des cellules souches des cryptes intestinales. 25
Figure 14. Perte rapide et complète des cellules souches intestinales Lgr^{5+} chez les souris $Ubc9^{KO.}$ 26
Figure 15. Impact de la diminution de la SUMOylation sur la différenciation et la polarité des entérocytes. 26
Figure 16. Schéma récapitulatif du rôle de la SUMOylation dans la voie de signalisation NF-κB. 27
Figure 17. Modulation de la SUMOylation dans un modèle murin de colite induite par le DSS. 30
Figure 18. Diminution de la SUMOylation chez les patients atteints de MICI. 30
Figure 19. Diminution des protéines SUMOylées de l'hôte lors d'une infection par *Listeria monocytogenes*..... 32
Figure 20. Stratégies utilisées par les bactéries pathogènes pour interférer avec la SUMOylation de la cellule hôte. 34
Figure 21. Arbre phylogénétique des bactéries résidant dans le colon. 35
Figure 22. Composition du microbiote intestinal le long du tractus gastro-intestinal. ... 36

Figure 23. Facteurs influençant le développement et la composition du microbiote intestinal tout au long de la vie 36
Figure 24. Illustration de la dysbiose intestinale. 37
Figure 25. Dysbiose du microbiote intestinal observée au cours des MICI..... 37
Figure 26. Effet « barrière » direct et indirect du microbiote intestinal. 39
Figure 27. Principaux métabolites produits à partir de la fermentation des glucides et des protéines par le microbiote intestinal 43
Figure 28. Fermentation des fibres non digestibles par le microbiote intestinal et production des principaux SCFA 43
Figure 29. Détection et voies d'entrée des SCFA dans les cellules épithéliales intestinales 45
Figure 30. Absorption et transport des SCFA……..45
Figure 31. Mécanismes de régulation de l'inflammation par les SCFA……...47
Figure 32. Fermentation des acides aminés branchés en BCFA par le microbiote intestinal..... 50
Figure 33. Résumé graphique ……...58

Tableau 1. Modification post-traductionnelles de type ubiquitine (UBLs) et fonctions associées.....….11
Tableau 2. Tableau récapitulatif des différentes isoformes de SUMO……..13

Glossaire

AIEC : *Escherichia coli* adhérentes invasives associées à la maladie de Crohn

ARNr 16S : ARN ribosomiques 16S

Ara-C : Cytarabine

As_2O_3 : Trioxide d'arsenic

BCAA : Acides aminés branchés

BCFA : Branched Chain Fatty Acids / Acides gras à chaine ramifiée

ChIP : ImmunoPrecipitation de la Chromatine

Cul-1 : Cullin-1

DDIT3 : DNA Damage-Induced Transcript 3

DNR : Daunorubicin

DUB : Déubiquitinases

E. coli : Escherichia coli

ECN : Entérocolite nécrosante

F. prausnitzii : Faecalibacterium prausnitzii

FFAR : Free Fatty Acid Receptor

FOS : Fructo-oligosaccharides

GLP-1 : Glucagon-like Peptide 1

GOS : Galacto-oligosaccharides

GPCR : Récepteurs membranaires spécifiques couplés aux protéines G

HDAC : Histones désacétylases

HECT : Homologous to the E6-AP C terminus

IκBα : NF-kappa-B Inhibitor alpha

IKK : Kinase IκB

ISG15: Interferon Stimulated Gene 15

L. monocytogenes : *Listeria monocytogenes*

LC-BCFA : Long-Chain BCFA / Acides gras à longue chaîne carbonée et ramifiée

LLO : listériolysine O

MC : Maladie de Crohn

MICI : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

MPTs : Modifications post-traductionnelles

NEDD88: Neural cell-Expressed, Developmentally Downregulated 8

NEMO : NF-κB Essential MOdulator

PCNA : Proliferating Cell Nuclear Antigen

PIAS : Protein lnhibitor of Activated STAT

PML : Promyelocytic leukemia protein

PYY : Peptide YY

RanBP2 : Ran Binding Protein 2

RCH : Rectocolite hémorragique

RING : Really interesting new gene

RNF4 : Ring-finger protein 4

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

S. flexneri : *Shigella flexneri*

S.Typhimurium : *Salmonella Typhimurium*

SBM : SUMO Binding Motif

SCFA : Short Chain Fatty Acids / Acides gras à chaîne courte

SENP : Sentrin Proteases

SIM : SUMO Interacting Motif

STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription

STUbL : SUMO-targeted Ubiquitin ligases

SUMO: Small Ubiquitin-related MOdifier

TGF-β : Transforming Growth Factor β

UBI : Ubiquitine

UBLs : UBiquitin-Like proteins

Résumé

Le microbiote intestinal produit une grande variété de métabolites qui peuvent agir sur les cellules de l'épithélium intestinal et modifier leur activité. Les acides gras, tels que les Acides Gras à Chaînes Courtes (SCFA) et les Acides Gras à Chaînes Ramifiées (BCFA), constituent une classe majeure de métabolites produits par les bactéries intestinales. Ces acides gras peuvent réguler les activités des cellules de l'intestin soit en modulant la transcription de gènes spécifiques soit en interférant avec les modifications post-traductionnelles des protéines intestinales.

La SUMOylation est une modification de type ubiquitine consistant en la fixation réversible de peptides SUMO (Small Ubiquitin-like MOdifier) sur des protéines cibles. Cette modification joue un rôle essentiel dans la physiologie et l'homéostasie intestinale. Certaines bactéries pathogènes sont capables d'altérer la SUMOylation des cellules intestinales. L'impact potentiel des bactéries commensales du microbiote intestinal sur cette modification post-traductionnelle reste, lui, inconnu.

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier si des métabolites bactériens comme les BCFA et les SCFA pouvaient moduler la SUMOylation des protéines intestinales et, le cas échéant, de déterminer l'impact de ces modifications sur la physiologie intestinale.

Nous avons montré que plusieurs BCFA (acide isobutyrique, acide isovalérique et acide 2-méthyl-butyrique) et plusieurs SCFA (acide acétique, acide butyrique et acide propionique) augmentent la SUMOylation des protéines de différentes lignées de cellules intestinales. Nous avons démontré que l'hyperSUMOylation induite par ces acides gras était dépendante du pH et résultait de la diffusion passive de ces acides à travers la membrane plasmique des cellules intestinales. Une fois dans les cellules, les BCFA/SCFA entrainent une inactivation des déSUMOylases intestinales (des enzymes impliquées dans la déconjugaison de SUMO) *via* l'induction d'un stress oxydant. Nous avons observé que l'hyperSUMOylation induite par les BCFA/SCFA touche principalement des protéines associées à la chromatine. Afin de déterminer l'impact de ces modifications sur la physiologie intestinale, nous nous sommes focalisés sur la voie de signalisation NF-κB, qui est un acteur clé de la réponse inflammatoire et qui est régulée par la SUMOylation. Nous avons pu montrer que l'hyperSUMOylation induite par les BCFA/SCFA bloque la dégradation du facteur inhibiteur IκBα en réponse au TNFα, inhibant ainsi l'activation de la voie NF-κB. Ceci se traduit par exemple par une diminution de l'expression de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL8 ou CCL20 en réponse au TNFα, et par une diminution de la perméabilité épithéliale dans un modèle *in vitro* d'épithélium intestinal.

En conclusion, ces travaux montrent pour la première fois que des métabolites produits par les bactéries du microbiote intestinal peuvent réguler l'activité des cellules intestinales en modulant la SUMOylation. Ces résultats illustrent un nouveau mécanisme d'inhibition de l'inflammation par le microbiote et ouvrent la voie à une potentielle application de ces métabolites dans le traitement de pathologies inflammatoires comme les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI).

Mots clé : Microbiote intestinal, Acides Gras à Chaînes Ramifiées (BCFA), Acides Gras à Chaînes Courtes (SCFA), SUMOylation, inflammation intestinale, modifications post-traductionnelles, interactions hôte-bactéries.

Abstract

The gut microbiota produces a wide variety of metabolites, which interact with intestinal cells and modify their activity. Fatty acids such as Short Chain Fatty Acids (SCFAs) and Branched Chain Fatty Acids (BCFAs) constitute a major class of metabolites produced by intestinal bacteria. These fatty acids regulate intestinal cell activities either by modulating the transcription of specific genes or by interfering with post-translational modifications of gut proteins.
SUMOylation is an ubiquitin-like modification consisting in the reversible conjugation of SUMO (Small Ubiquitin-like MOdifier) peptides to target proteins. This modification plays essential roles in intestinal physiology and homeostasis. Some pathogenic bacteria may interfere with intestinal cell SUMOylation. The potential impact of commensal bacteria on this intestinal post-translational modification remains however unknown.

The objectives of this thesis work were (1) to determine whether bacterial metabolites such as BCFAs and SCFAs could modulate intestinal protein SUMOylation and (2) to characterize the impact of these SUMO-regulations on intestinal physiology.

We showed that several BCFAs (isobutyric acid, isovaleric acid and 2-methyl-butyric acid) and several SCFAs (acetic acid, butyric acid and propionic acid) increase intestinal protein SUMOylation in different intestinal cell lines. We demonstrated that the hyperSUMOylation induced by these fatty acids is pH-dependent and results from the passive diffusion of these acids through the plasma membrane of intestinal cells. Once inside cells, BCFAs/SCFAs trigger the inactivation of deSUMOylases (which are enzymes involved in the deconjugation of SUMO) *via* the induction of an oxidative stress. We observed that the hyperSUMOylation induced by BCFAs/SCFAs mainly affect chromatin-bound proteins. In order to determine the impact of these modifications on intestinal physiology, we focused on the NF-κB signaling pathway, a key player in inflammation known to be regulated by SUMOylation. We demonstrated that the hyperSUMOylation induced by BCFAs/SCFAs blocks the degradation of the inhibitory factor IκBα in response to TNFα, and thus inhibits the activation of the NF-κB pathway. These results, for example, in a decrease in pro-inflammatory cytokines expression such as IL8 or CCL20 in response to TNFα, as well as a decrease in epithelial permeability in an *in vitro* model of intestinal epithelium.

In conclusion, our work shows for the first time that metabolites produced by gut commensal bacteria can regulate intestinal cells activities by modulating SUMOylation. These results illustrate a new mechanism of dampening of inflammatory responses by the microbiota and pave the way for the potential use of these metabolites in the treatment of inflammatory pathologies such as Inflammatory Bowel Diseases (IBD).

Keywords: Gut microbiota, Branched Chain Fatty Acids (BCFAs), Short Chain Fatty Acids (SCFAs), SUMOylation, intestinal inflammation, post-translational modifications, host-bacteria interactions.

Introduction générale

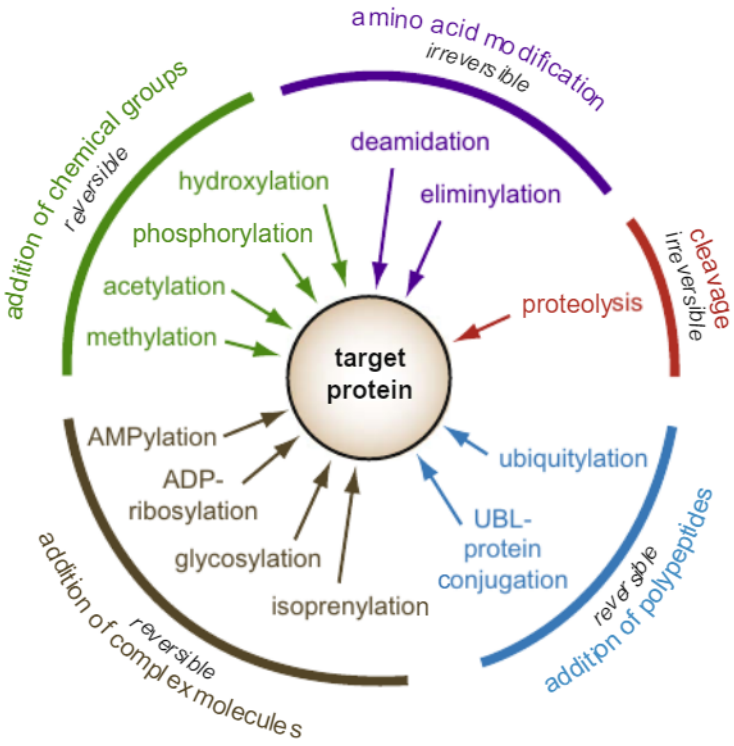


Figure 1. Diversité des modifications post-traductionnelles. Les modifications post-traductionnelles d'une protéine cible peuvent être réversibles (fixation de groupements chimiques ou de molécules complexes sur des acides aminés spécifiques) ou irréversibles (protéolyse, désamidation, déphosphorylation irréversible (eliminylation)) (Ribet et Cossart, 2010).

I. Les modifications post-traductionnelles

Le génome humain comporte environ 30 000 gènes codant pour des protéines. Cependant, le nombre de protéines composant le protéome humain est estimé à environ 1,8 millions de protéines différentes (≈ 20 fois plus élevé que le nombre de gènes). Cette immense diversité est due à divers mécanismes comme l'épissage alternatif ou l'utilisation de promoteurs alternatifs, mais également aux **modifications post-traductionnelles (MPTs)**. En effet, la plupart des protéines peuvent être modifiées, après leur traduction. Selon les modifications apportées, on peut compter jusqu'à une dizaine de formes différentes pour une seule protéine modifiée (On, 2004).

A ce jour, plus de 300 modifications post-traductionnelles ont été identifiées. Elles incluent l'ajout de groupements chimiques simples (par exemple des phosphates, des acétates ou des méthyles), l'ajout de molécules plus complexes (par exemple des glucides ou des lipides), ou même l'ajout de petites protéines comme l'ubiquitine ou des protéines « de type ubiquitine » (UBLs pour UBiquitin-Like proteins). Les MPTs peuvent également correspondre à la modification des résidus de la chaîne latérale d'acides aminés spécifiques (comme la désamidation) ou le clivage irréversible d'une liaison peptidique (protéolyse) d'une protéine cible **(Figure 1)**.

Une même protéine peut être modifiée sur plusieurs acides aminés par des groupements chimiques différents. De plus, ces MPTs sont capables d'interagir entre elles, créant ainsi un véritable réseau et une complexité de régulation considérable. Les MPTs sont considérées comme des « outils » très polyvalents, utilisés à la fois par les cellules procaryotes et eucaryotes, afin de réguler localement et spécifiquement l'activité de facteurs clés et permettre aux cellules de répondre rapidement aux changements environnementaux. En effet, les MPTs sont impliquées dans de nombreux processus cellulaires tels que la régulation de l'activité des protéines cibles de l'hôte, leur localisation intracellulaire, leur stabilité et leur capacité d'interaction avec d'autres protéines affectant ainsi leur fonction (Ribet and Cossart, 2010).

1. L'ubiquitination

L'ubiquitination est une MPT qui correspond à la fixation covalente de **l'ubiquitine** (UBI), un petit polypeptide de 76 acides aminés, sur une protéine cible. L'ubiquitine est une protéine ubiquitaire retrouvée chez l'ensemble des eucaryotes

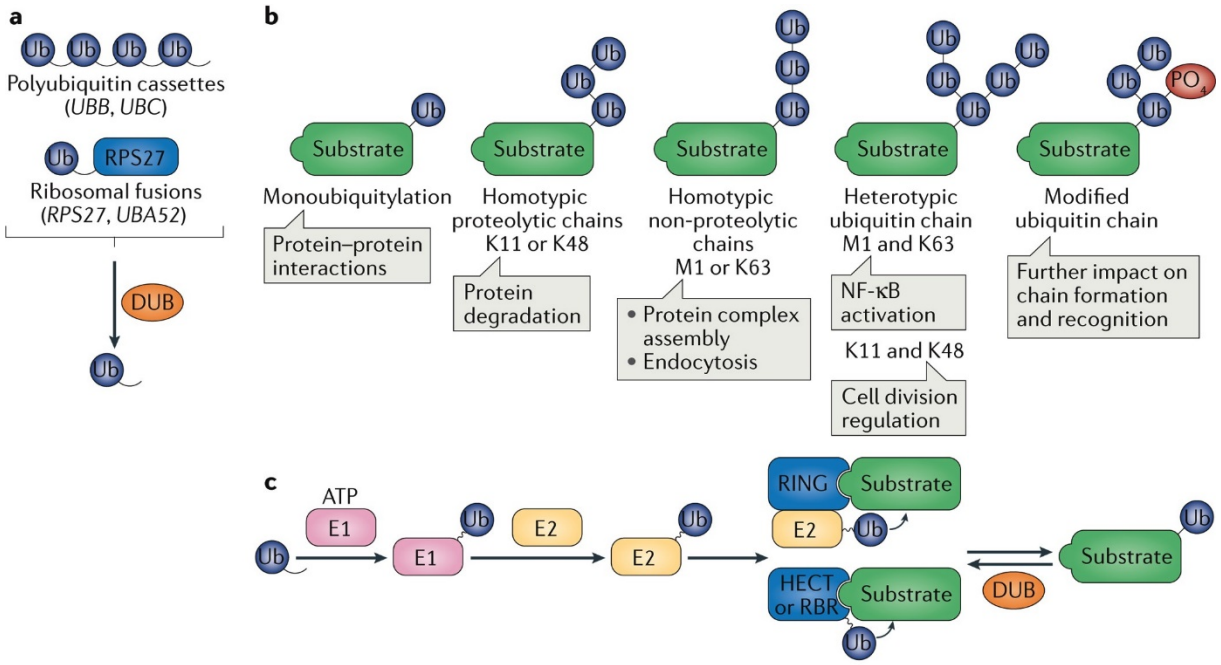


Figure 2. La machinerie d'ubiquitination. a) L'ubiquitine est initialement traduite soit sous forme de fusion avec des protéines ribosomales, soit sous forme de « polyubiquitine » par les gènes codants pour UBB et UBC. La prise en charge de ces protéines par des déubiquitinases (DUB) permet de libérer des monomères d'ubiquitine matures, possédant toute la même séquence. (b) La conjugaison d'une ou de plusieurs molécules d'ubiquitine sur une protéine cible (substrat) entraine la formation de structures variées ayant des conséquences fonctionnelles différentes. (c) La cascade enzymatique de fixation de l'ubiquitine implique des enzymes E1, qui activent et transfèrent l'ubiquitine à des enzymes de conjugaison E2, qui se lient à leur tour avec des ligases E3. Dans le cas des ligases E3 de type RING (really interesting new gene) /U-box, l'ubiquitine est directement transférée de l'enzyme E2 sur le substrat. Dans le cas des ligases E3 de type HECT (homologous to the E6-AP C terminus), l'ubiquitine est transférée sur l'E3 avant d'être fixée sur le substrat. Les DUB assurent enfin la réversibilité de la fixation de l'ubiquitine en clivant la liaison isopeptidique entre l'ubiquitine et sa cible (Rape, 2017).

Chez l'homme, il existe 3 gènes différents codant pour ce polypeptide qui joue un rôle essentiel dans la régulation de l'homéostasie cellulaire (Swatek et Komander., 2016). Initialement, l'ubiquitination a été décrite pour son rôle central dans l'adressage des protéines vers le protéasome où elles seront dégradées par protéolyse. De nombreux autres mécanismes impliquant l'ubiquitine ont été décrits aujourd'hui. Cette MPT joue en particulier un rôle dans la réponse immunitaire, l'apoptose, l'endocytose, la mobilité de protéines membranaires, la réparation de l'ADN, la transduction du signal ou la régulation de la transcription (Cajee *et al.*, 2012).

Une fois l'ubiquitine synthétisée, elle peut être conjuguée de différentes manières sur des protéines cibles :

- L'ubiquitine peut se lier sur un résidu lysine d'une protéine cible ; on appelle cette modification une **mono-ubiquitination**. La mono-ubiquitination est impliquée dans la signalisation cellulaire, la localisation de certaines protéines, l'expression génique et les régulations épigénétiques (Komander *et al.*, 2012).

- L'ubiquitine peut se lier à une autre ubiquitine. En effet, l'ubiquitine contient elle-même sept lysines (K6, K11, K27, K29, K33, K48 et K63) et une méthionine (M1). Ces résidus peuvent jouer le rôle de site de liaison pour d'autres ubiquitines, aboutissant ainsi à la formation de chaînes d'ubiquitine ; ce type de modification est appelé **poly-ubiquitination** (Hochstrasser *et al.*, 2004) **(Figure 2)**.

La **poly-ubiquitination** est impliquée dans de nombreuses voies de régulation. Les conséquences fonctionnelles de cette poly-ubiquitination dépend du type de chaîne formé.

Les **deux types de chaînes** d'ubiquitine les plus couramment observées sont :

- **Les chaînes de poly-ubiquitines liées par la lysine K48** qui permettent l'acheminement des protéines modifiées vers le protéasome afin d'être dégradées. Cette dégradation est très importante pour l'homéostasie cellulaire. Elle permet d'éliminer les protéines défectueuses et de réguler l'activité de certaines protéines impliquées dans des voies de signalisation.

- **Les chaînes de poly-ubiquitines liées par la lysine K63** assurent principalement la dégradation lysosomale des récepteurs membranaires mais elles sont aussi impliquées dans divers processus non protéolytiques, tels que la réparation de l'ADN, la

signalisation cellulaire (comme l'activation de la voie NF-κB) (Herrmann *et al.*, 2007) ou la synthèse des ribosomes (Li *et al.*, 2008).

- Il existe également d'autres types de chaînes d'ubiquitine, moins « classiques ». Le résidu méthionine en position 1 (M1) de l'ubiquitine peut par exemple se lier à la molécule d'ubiquitine suivante pour former des **chaînes de poly-ubiquitine dites linéaires**. Tout comme les chaines de type K63, les chaînes linéaires sont impliquées dans la régulation de voies de signalisation immunitaires et inflammatoires (Hrdinka et Gyrd-Hansen, 2017).

- Enfin, certaines chaînes peuvent combiner différents types de liaison entre les monomères d'ubiquitine, aboutissant à **des chaînes de type mixtes ou ramifiées**. Par exemple, **les chaînes mixtes K11/K48** induisent la dégradation des protéines modifiées par le protéasome, tandis que **les chaînes mixtes K63/M1** sont impliquées dans la voie de signalisation NF-κB (French *et al.*, 2017).

La conjugaison d'une ubiquitine à son substrat se fait *via* une machinerie enzymatique composée de 3 classes d'enzymes : enzymes activatrices E1, enzymes de conjugaison E2, et enzymes de liaison E3 (**Figure 2**). Une fois synthétisée, l'ubiquitine est maturée par un clivage protéolytique exposant un motif « diglycine » (-GG) à son extrémité C-terminale. Après sa maturation, l'ubiquitine est activée par une enzyme E1 selon un processus ATP dépendant. Deux enzymes E1 (UBA1 et UBA6) sont codées dans le génome humain. L'ubiquitine est ensuite transférée à une enzyme E2. Il existe plusieurs dizaines d'enzymes E2 chez l'homme. L'enzyme E2 participe elle-même à la reconnaissance et la modification d'une protéine cible, cependant cette étape nécessite l'intervention d'une enzyme E3 (Swatek *et al.*, 2016). Les E3 permettent la liaison spécifique de l'ubiquitine sur une lysine de la protéine cible. Le grand nombre d'enzymes E3 (500-1000 ligases E3 décrites chez l'homme) souligne la spécificité du mécanisme de conjugaison de l'Ubiquitine sur sa cible (Nakayama *et al.*, 2006).

On distingue 2 grandes classes d'enzymes E3 : le type **HECT** (homologous to the E6-AP C terminus) et le type **RING** (really interesting new gene) / **U-box**.

Les ligases E3 de type RING / U-box assurent le transfert direct de l'Ubiquitine à partir de l'E2 vers la protéine cible tandis que les ligases E3 de type HECT forment un intermédiaire covalent avec l'Ubiquitine avant son transfert sur la protéine cible (Ribet et Cossart., 2018).

Tableau 1. Modifications post-traductionnelles de type ubiquitine (UBLs) et fonctions associées.

Modificateur/UBL	E1	E2	E3	Protéases	Fonctions
SUMO 1 **SUMO 2** **SUMO 3** **SUMO 4** **SUMO 5**	SAE1 SAE2	UBC9	≈15	SENP 1-7 DeSI 1-2 USPL1	-Transport nucléaire -Réplication et réparation de l'ADN -Mitose et transduction du signal -Réponse au stress oxydatif -Réponse inflammatoire (Chang et yeh., 2020).
NEDD8	NAE1 UBA3	UBC12 UBE2F	≈ 10	CSN5 NEDP1	-Régulation de l'ubiquitination -Contrôle du cycle cellulaire et embryogenèse (Radoslav *et al.*, 2015)
ISG15	UBE1L	UBCH8 UBCH6	HERC5	USP18	-Immunité antivirale (antagonise la réplication virale) -Contrôle du cycle cellulaire (Perng et Lenschow, 2018)
FAT10	UBA6	USE2	?	?	-Dégradation indépendante du protéasome -Réponse inflammatoire -Réponse au LPS -Apoptose (Aichem et Groettrup, 2020)
UFM1	UBA5	UFC1	UFL1	UFSP1 UFSP2	-Réparation de l'ADN -Différenciation de la lignée myéloïde (Van der Veen et Ploegh, 2012)
URM1	UBA4	?	?	?	-Réponse au stress oxydant (Gâtel *et al.*, 2020)
ATG12	ATG7	ATG10	?	?	-Homéostasie mitochondriale -Autophagie (Geng *et al.*, 2008)
UBL5	?	?	?	?	-Ségrégation chromosomique -Epissage (Oka *et al.*, 2014)
ATG8	ATG7	ATG3	?	ATG4	-Autophagie (Gatel *et al.*, 2020)
GABARAPL1(Atg8L) **GABARAPL2**(Atg8C) **GABARAPL3** **GABARAP** (Atg8A) **MAP1LC3C** (Atg8E) **MAP1LC3A** (Atg8F) **MAP1LC3B**	ATG7	ATG3	ATG12 ATG5 ATG16L	ATG4A-D	-Formation des autophagosomes -Autophagie sélective -Transport intracellulaire des récepteurs GABA. -Apoptose (Van der Veen et Ploegh, 2012)

L'ubiquitination est une MPT réversible. La déconjugaison de l'ubiquitine d'une protéine cible (ou le clivage entre deux ubiquitines d'une même chaîne) se fait grâce à des protéases spécifiques appelées **déubiquitinases (DUB)**. Ces enzymes interviennent aussi dans les étapes de maturation de l'ubiquitine (Swatek et Komander, 2016) **(Figure 2)**.

2. Les MPTs de type ubiquitine

À la suite de la découverte de l'ubiquitine, plusieurs peptides apparentés ont été identifiés. Ces peptides partagent une homologie structurale élevée avec l'ubiquitine et leur mécanisme de conjugaison sur des substrats cibles est identique à celui de l'ubiquitination. Ces peptides sont regroupés sous l'appellation « **modifications de type ubiquitine »** (Ribet et Cossart, 2010).

Les protéines UBLs sont impliquées, tout comme l'ubiquitine, dans la régulation de nombreux processus cellulaires comme la protéolyse, la transcription, la réparation des dommages à l'ADN, la transduction du signal, l'autophagie, les réponses au stress, la progression du cycle cellulaire ou la réponse aux infections (Van Der Veen et Ploegh, 2012).

Il existe une dizaine d'UBLs différentes. Les plus étudiées sont l'**ISG15 (Interferon Stimulated Gene 15)**, **NEDD88 (Neural cell-Expressed, Developmentally Downregulated 8)** et **SUMO (Small Ubiquitin-related MOdifier)** **(Tableau 1) :**

- **ISG15** est connu pour son rôle essentiel dans la réponse antivirale. L'ISGylation est impliquée dans la réponse à l'interféron et cible à la fois des protéines virales et cellulaires de l'hôte (Perng et Lenschow, 2018).

- **NEDD8** possède la plus grande similitude de séquence avec l'ubiquitine, parmi l'ensemble des UBLs (59%). NEDD8 a été principalement caractérisée dans le cadre de sa conjugaison à la famille des ubiquitine E3 ligases de type Cullin-RING-ligases (CRLs).

L'activation des CRLs par NEDD8 régule un large éventail de processus cellulaires médiés par les substrats des CRLs comme la progression du cycle cellulaire, la croissance et la différenciation, les réponses au stress, la réparation de l'ADN et la signalisation cellulaire (Enchev *et al.*, 2015).

L'inhibition de la Neddylation induit un arrêt de la division cellulaire et est létale chez de nombreux organismes (Soucy *et al.*, 2010).

- SUMO est la modification de type ubiquitine la mieux caractérisée à l'heure actuelle (voir ci-dessous).

II. La SUMOylation

La SUMOylation est une modification post-traductionnelle fondamentale qui se traduit par une liaison covalente d'un polypeptide **SUMO**, de 10 kDa, sur une lysine d'un protéine cible. Ces polypeptides **SUMO** sont retrouvés chez l'ensemble des eucaryotes étudiés, de *Saccharomyces cerevisiae* à *Homo Sapiens*. Chez les Mammifères, il existe plus de 3000 protéines cibles potentiellement modifiées par SUMO (Hendriks et Vertegaal 2016).

Depuis sa découverte il y a 25 ans, la SUMOylation suscite un grand intérêt. Cette modification est impliquée dans divers mécanismes comme la régulation de la transcription, le maintien de l'intégrité du génome, la prolifération cellulaire, le transport intracellulaire ou les réponses au stress (Celen et Sahin., 2020). Contrairement à l'ubiquitination, qui est connue pour son rôle majeur dans la dégradation protéique par le protéasome, l'implication de la SUMOylation dans la régulation de la stabilité des protéines a n'a été observée que dans un nombre limité de cas (Zhu *et al.*, 1997 ; Lallemand-Breitenbach *et al.*, 2008).

Chez *Saccharomyces cerevisiae*, il existe un unique gène SUMO (SMT3 ; Suppressor of Mif Two 3) qui a été identifié lors d'un criblage génétique de suppresseurs de MIF2 (Mitotic Fidelity of chromosome transmission protein 2), une protéine essentielle de la division cellulaire (Meluh and Koshland, 1995). Une année plus tard, la protéine SUMO humaine a été identifiée dans trois études indépendantes, toutes rapportant des similitudes entre cette nouvelle protéine et l'ubiquitine :

- Shen *et al.* ont identifié SUMO en étudiant une des voies de réparation de l'ADN et l'ont nommée protéine de type ubiquitine 1 (Ubl1) (Shen *et al.*, 1996).

- Okura *et al.* ont mis en évidence que SUMO était un facteur essentiel à la viabilité cellulaire dans les voies apoptotiques impliquant la protéine TNFα (Tumor Necrosis Factor α) et l'ont baptisé « Sentrin » (Okura *et al.*, 1996).

A

```
Ubb         ----------------------MQIFVKTLTGKTITLEVEPSDTIENVKAKIQDKEGIPPD   39
SUMO-1      MSDQEAKPSTEDLGDKKEGEYIKLKVIGQDSSEIHFKVKMTTHLKKLKESYCQRQGVPMN   60
SUMO-5      MSDLEAKPSTEHLGDKIKDEDIKLRVIGQDSSEIHFKVKMTTPLKKLKKSYCQRQGVPVN   60
SUMO-4      MAN--EKPTEE--VKTENNNHINLKVAGQDGSVVQFKIKRQTPLSKLMKAYCEPRGLSMK   56
SUMO-2      MAD--EKPKEG--VKTENNDHINLKVAGQDGSVVQFKIKRHTPLSKLMKAYCERQGLSMR   56
SUMO-3      MSE--EKPKEG--VKTE-NDHINLKVAGQDGSVVQFKIKRHTPLSKLMKAYCERQGLSMR   55
                           ::: *    .. : ::::    :.::     : .*:

Ubb         QQRLIFAGKQLEDGRTLSDYNIQKESTLHLVLRLRGG-----------   76
SUMO-1      SLRFLFEGQRIADNHTPKELGMEEEDVIEVYQEQTGGHSTV-------   101
SUMO-5      SLRFLFEGQRIADNHTPEELGMEEEDVIEVYQEQIGGHSTV-------   101
SUMO-4      QIRFRFGGQPISGTDKPAQLEMEDEDTIDVFQQPTGGVY---------   95
SUMO-2      QIRFRFDGQPINETDTPAQLEMEDEDTIDVFQQQTGGVY---------   95
SUMO-3      QIRFRFDGQPINETDTPAQLEMEDEDTIDVFQQQTGGVPESSLAGHSF   103
            . *: * *: :    .  :  ::.*..:.:  .  **
```

B

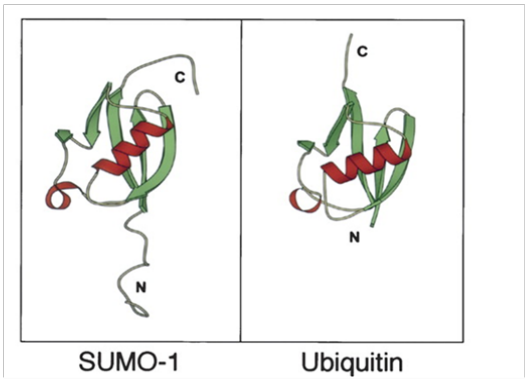


Figure 3. Comparaison entre les protéines SUMO et l'ubiquitine. (A) L'alignements des séquences d'acides aminés entre les isoformes SUMO et l'ubiquitine chez l'homme révèle des similitudes fortes entre ces séquences. (B) Les protéines SUMO1 et l'ubiquitine présentent une très forte similitude de structure tridimensionnelle. La protéine SUMO1 se distingue de l'ubiquitine par la présence d'une queue N-terminale d'une vingtaine d'acide aminés (Gill, 2004).

Tableau 2. Tableau récapitulatif des différentes isoformes de SUMO (Bohren *et al.*, 2004 ; Liang *et al.*, 2016 ; Chang et Yeh, 2020).

	% homologie avec ubiquitine	Taille	Spécificité
SUMO1	18	101 acides aminés	-Structure tridimensionnelle homologue à l'ubiquitine. -Similarité de : 48% avec SUMO 2 46% avec SUMO 3 -Absence de site consensus SUMO : ne forme pas de chaîne -Participe à la SUMOylation « **constitutive** » des protéines cellulaires -Exprimée dans tous les types cellulaires de l'organisme
SUMO2 **SUMO3**	16 16	103 acides aminés 95 acides aminés	-Homologie de séquence de 97% entre ces 2 isoformes -Exprimées dans tous les types cellulaires -Supposées être fonctionnellement identique -Présence d'un site interne de conjugaison de SUMO permettant la formation de chaînes poly-SUMOylées -Forme libre plus abondante dans les cellules que celle de **SUMO1** -Participe à la SUMOylation « **inductible** » des protéines cellulaires, en réponse à des stress -Exprimées dans tous les types cellulaires de l'organisme
SUMO4	18	95 acides aminés	-Homologie de 87% avec **SUMO2** -Exprimé dans le rein, la rate, le placenta et les ganglions lymphatiques -Pseudogène non fonctionnel ?
SUMO5	15	101 acides aminés	-Homologie de 88% avec **SUMO1** -Exprimé seulement dans les testicules et les leucocytes périphériques. -Impliqués dans la formation et la stabilité des corps nucléaires PML

- Enfin, SUMO a été identifié par l'équipe Boddy *et al.* qui l'ont appelé PIC1 et l'ont désigné comme la première protéine associée aux corps nucléaires (NB) formés par la protéine PML (ProMyelocytic Leukemia protein) (Boddy *et al.*, 1996 ; Lallemand-Breitenbach et deThé, 2018).

1. Les isoformes de SUMO

Contrairement à l'ubiquitine, le génome humain code pour plusieurs polypeptides SUMO différents (aussi appelés isoformes). A ce jour, on dénombre 5 isoformes SUMO chez l'homme, nommées **SUMO1, SUMO2, SUMO3, SUMO4,** et **SUMO5** **(Figure 3) (Tableau 2)**.

Les isoformes les plus étudiées à l'heure actuelle sont SUMO1, SUMO2 et SUMO3. **SUMO2** et **SUMO3** présentent 97% d'identité de séquence. Du fait de cette forte similitude, ces deux isoformes sont généralement dénommées **SUMO2/3** (la plupart des anticorps dirigés contre l'une de ces isoformes reconnaît à la fois SUMO2 et SUMO3). Les isoformes **SUMO2/3** sont en revanche bien distinctes de **SUMO1** et ne partagent qu'environ 50% d'identité avec cette dernière (Saitoh et Hinchey, 2000 ; Celen et Sahin., 2020).

Les isoformes SUMO4 et SUMO5 sont beaucoup moins bien caractérisées :

- **SUMO4** partage 87% d'homologie de séquence avec SUMO3 et est plutôt considérée comme étant un pseudogène non fonctionnel (Hay, 2005 ; Bohren *et al.*, 2004). En effet, cette isoforme n'est pas maturée par les déSUMOylases et ne peut donc théoriquement pas être conjuguée sur des protéines cibles (Owerbach *et al.* 2005). Alors que SUMO1, 2 et 3 sont largement exprimées dans tous les types cellulaires de l'organisme, l'expression de **SUMO4** est limitée aux reins, à la rate, au placenta et aux ganglions lymphatiques (Celen et Sahin, 2020).

  - Récemment, une 5^{éme} isoforme de SUMO a été identifiée. L'isoforme **SUMO5** n'est exprimée qu'au niveau de tissus spécifiques tels que les testicules et les leucocytes du sang périphérique, où elle peut réguler la formation et la stabilité des corps nucléaires PML (Liang *et al.*, 2016). Le rôle spécifique de cette isoforme par rapport à SUMO1 et SUMO2/3 reste cependant à préciser.

De façon analogue à l'ubiquitination, l'ajout d'un peptide SUMO peut se faire sur un peptide SUMO déjà conjugué à une protéine cible, induisant ainsi la formation de chaînes de SUMO (polySUMOylation). Ce mécanisme n'est possible que s'il existe un site de SUMOylation sur le peptide SUMO déjà fixé **(Cf I.3)**, ce qui est le cas uniquement pour les isoformes **SUMO2**

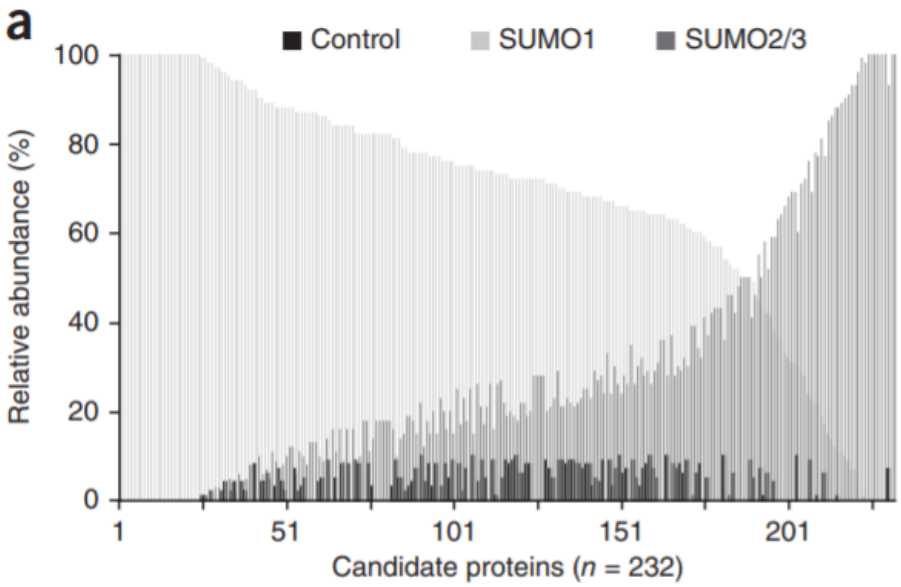


Figure 4. Spécificité de conjugaison d'une protéine cible à SUMO1 ou SUMO2/3. Représentation graphique du pourcentage relatif de conjugaison à SUMO1 ou à SUMO2/3 de 232 protéines SUMOylées chez l'Homme (Becker *et al.*, 2013). Certaines protéines sont exclusivement modifiées par SUMO1 ou par SUMO2/3 alors que d'autres peuvent être modifiées indifféremment par ces 2 isoformes.

et **SUMO3**. En effet, ces isoformes permettent la formation de **chaînes polySUMOylées** impliquant la lysine K11. D'autres lysines, comme K5 ou K7, peuvent également être impliquées dans la formation de chaînes polySUMOylées (Tatham *et al.*, 2001). L'utilisation de ces différentes sites internes n'étant pas exclusive, il est possible d'observer des chaînes **SUMO2/3** formant des ramifications (Tammsalu *et al.*, 2014).

D'un point de vue fonctionnel, ces 5 isoformes SUMO ne sont pas redondantes. Par exemple, une étude a montré un retard de développement sévère et un taux élevé de mortalité embryonnaire chez des souris génétiquement invalidées pour SUMO2 (knock-out SUMO2) comparées à des souris génétiquement invalidées pour SUMO3 (knock-out SUMO3). Ces résultats suggèrent soit que l'expression de SUMO2 est beaucoup plus élevée que celle de SUMO3 soit que ces 2 isoformes ont des fonctions différentes, du moins pendant la phase du développement (Wang *et al.*, 2014).

L'identification des cibles conjuguées aux différentes isoformes de SUMO a également révélé certaines spécificités. Certaines cibles peuvent indifféremment être modifiées par l'une ou l'autre des isoformes, alors que d'autres cibles ne sont modifiées que par des isoformes spécifiques (Becker *et al.*, 2013) **(Figure 4)**

Malgré cette spécificité, il a été montré que **SUMO2/3** peut compenser partiellement la perte de **SUMO1** dans un modèle de souris génétiquement invalidées pour **SUMO1** (Zhang *et al.*, 2008 ; Evdokimov *et al.*, 2008).

Il existe également des différences de « taux » de conjugaison de ces différentes isoformes. **SUMO1** se trouve en général sous forme conjuguée. En conséquence, la quantité de SUMO1 libres dans la cellule est faible. Au contraire, il existe une fraction importante de **SUMO2/3** non conjuguée dans les cellules, pouvant être mobilisée massivement en réponse à différents stress cellulaires comme l'exposition à un stress oxydant ou un choc thermique (Saitoh et Hinchey, 2000). La conjugaison par l'isoforme SUMO1 des protéines cellulaires est donc considérée comme « constitutive », alors que la modification par SUMO2/3 serait plutôt « inductible ».

2. La machinerie de SUMOylation

Comme l'ubiquitination, la SUMOylation est une modification impliquant une cascade enzymatique composée de 3 classes d'enzymes (E1, E2 et E3) spécifiques de SUMO.

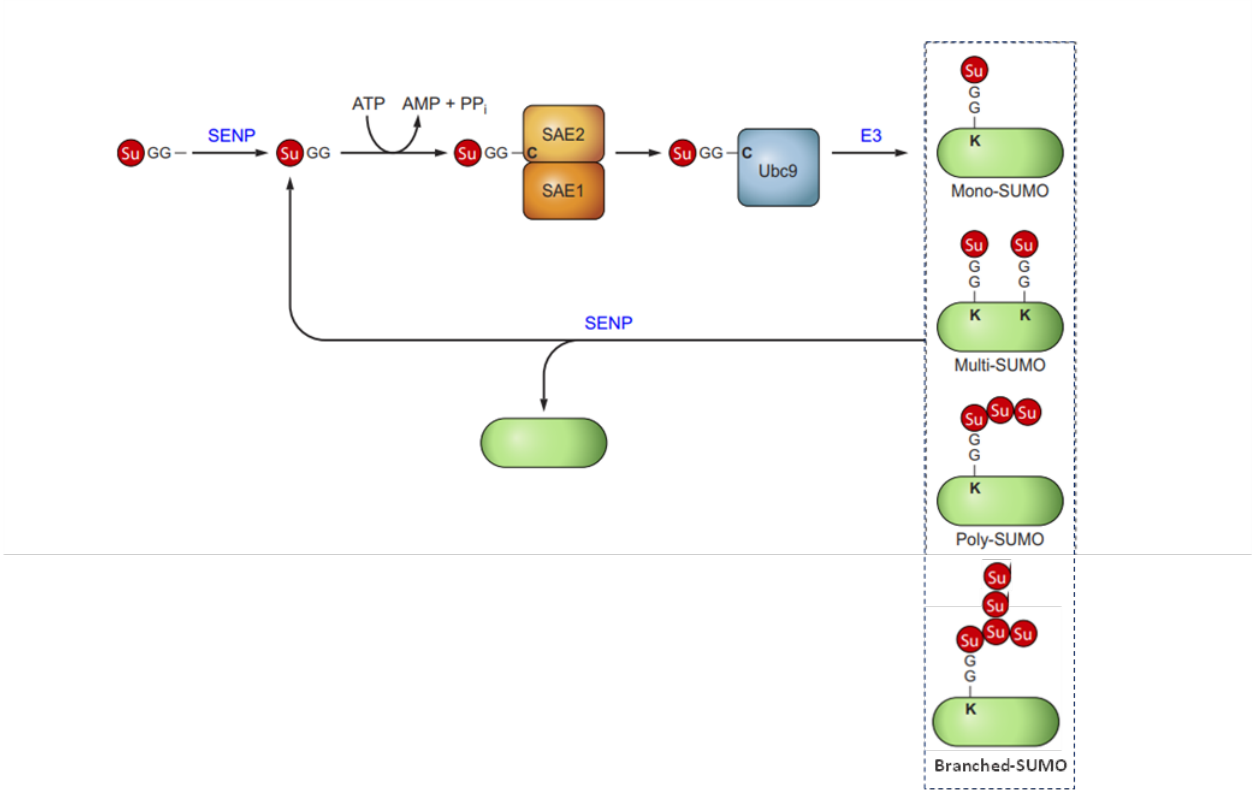


Figure 5. La machinerie de SUMOylation. Les peptides SUMO, une fois synthétisés, sont d'abord maturés par des protéase spécifique (SENP1, SENP2 et SENP5) qui permettent l'exposition d'un motif GG C-terminal essentiel pour la conjugaison de SUMO sur des lysines de protéines cibles. Les peptides SUMO matures sont ensuite activés par l'enzyme SUMO E1 (SAE1/SAE2), transférés sur l'enzyme SUMO E2 (UBC9) et finalement conjugués de manière covalente sur des résidus Lys de protéines cibles, *via* l'aide potentielle de ligases SUMO E3. SUMO1 est souvent conjugué sous forme de monomère sur une (mono-SUMOylation) ou plusieurs lysines (multi-SUMOylation) d'une protéine cible. SUMO2/3 peut former des chaînes poly-SUMOylées. La SUMOylation est une modification réversible grâce à l'action des déSUMOylases (adapté de Chang et Yeh, 2020).

Le nombre d'enzymes impliquées dans la SUMOylation (en particulier les E2 et les E3) est beaucoup plus limité par rapport à la machinerie d'ubiquitination. Chez l'homme, la machinerie de SUMOylation n'est composée que d'une enzyme d'activation **SUMO E1** (formée par l'hétérodimère **SAE1/SAE2**), d'une seule enzyme de conjugaison **SUMO E2** (**UBC9**) et d'une douzaine de ligases **SUMO E3** (Ribet et Cossart, 2010) **(Figure 5)**.

Les peptides SUMO sont initialement traduits sous formes de précurseurs. Leur prise en charge par la machinerie de SUMOylation nécessite d'abord leur maturation par des protéases spécifiques de SUMO, catalysant un clivage protéolytique permettant l'exposition d'un motif di-Glycine carboxy-terminal (-GG). Les peptides SUMO matures sont ensuite pris en charge et activés par l'enzyme SUMO E1 (SAE1/SAE2) *via* la formation d'une liaison thioester entre le motif SUMO-GG et un résidu cystéine de SAE2 (réaction ATP-dépendante). Le peptide SUMO ainsi activé est alors transféré sur l'enzyme de conjugaison SUMO E2 (UBC9) (Gareau et Lima, 2010).

L'enzyme UBC9 est un élément clé de la machinerie de SUMOylation. Elle est capable de catalyser directement le transfert de SUMO sur les protéines cibles. Ce transfert peut soit faire intervenir une enzyme **SUMO E3**, soit se faire de façon E3-indépendante (Pichler *et al.*, 2017)

Les **ligases SUMO E3** confèrent une spécificité et une efficacité catalytique supplémentaire au processus de SUMOylation. En se liant directement à l'enzyme UBC9 et aux substrats SUMO à modifier, les enzymes SUMO E3 favorisent la capacité de décharge de SUMO de l'E2 vers le substrat et augmentent l'efficacité de conjugaison de SUMO sur sa cible (Hay, 2005).

Même s'il existe un nombre limité de SUMO E3 par rapport à la machinerie d'ubiquitination, on peut distinguer plusieurs familles.

La famille des ligases **SUMO E3** la mieux caractérisée regroupe les protéines inhibitrices de la voie STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription), aussi appelées PIAS (Protein lnhibitor of Activated STAT).

La famille **PIAS** est constituée de : **PIAS1, PIAS2 (PIASx), PIAS3, PIAS4 (PIASy)** qui servent de ligases pour un grand nombre de substrats SUMO, notamment des facteurs de transcription.

Les PIAS possèdent une structure de type RING essentielle à leur fonction E3 (Chang et Yeh., 2020). Elles se lient à UBC9 ou SUMO *via* deux domaines spécifiques (SP-RING et SP-CTD), respectivement (Wang et Dasso, 2009).

Chaque **PIAS** pourrait avoir un substrat unique ainsi qu'une fonction spécifique. Par exemple, **PIAS1** joue un rôle essentiel dans la l'inhibition de l'expression de gènes pro-inflammatoires (Tahk *et al.*, 2007). D'autre part, **PIAS1** et **PIAS4** sont également impliquées dans la réparation de l'ADN (Wang *et al.*, 2007 ; Galanty *et al.*, 2009).

La deuxième famille de SUMO E3 ligases est représentée par la protéine **RanBP2** (Ran Binding Protein 2) qui appartient au complexe des pores nucléaires. Cette protéine se lie préférentiellement à l'isoforme SUMO1, mais pas à l'isoforme SUMO2/3 (Tatham *et al.*, 2005). RanBP2 interagit spécifiquement avec les complexes UBC9-RanGAP1-SUMO1 et régule le niveau de SUMOylation de RanGAP1 (Zhu *et al.*, 2009). La SUMOylation de RanGAP1, première cible identifiée de SUMO, est indispensable pour le trafic nucléocytoplasmique. RanBP2 est donc impliquée dans la régulation du transport des protéines à travers l'enveloppe nucléaire (Chang et Yeh., 2020)**.**

La troisième famille de SUMO E3 ligase est constituée de la protéine **Polycomb Pc2**, aussi nommée CBX4, qui est impliquée dans la SUMOylation du corépresseur CtBP. Elle participe à la formation de complexes multimériques impliqués dans la méthylation des histones (Kagey *et al.*, 2003).

3. Les DéSUMOylases

La SUMOylation est une modification réversible. Les peptides SUMO conjugués sur leurs cibles peuvent être éliminés par des protéases spécifiques appelées déSUMOylases. Les déSUMOylases catalysent le clivage de la liaison isopeptidique entre le polypeptide SUMO et la chaîne latérale de la lysine sur laquelle il est fixé.

Les principales déSUMOylases caractérisées à l'heure actuelle sont les protéases de type Sentrin (Sentrin Proteases) ou SENP. Il existe six SENP possédant une activité déSUMOylase : **SENP1, SENP2, SENP3, SENP5, SENP6** et **SENP7**. Les SENP se localisent principalement dans le noyau (Mukhopadhyay et Dasso, 2007)

Les enzymes **SENP1**, **SENP2** et **SENP5** sont en parallèle responsables de la maturation des précurseurs de SUMO, avant leur prise en charge par la machinerie de SUMOylation (Hanoun *et al.*, 2010).

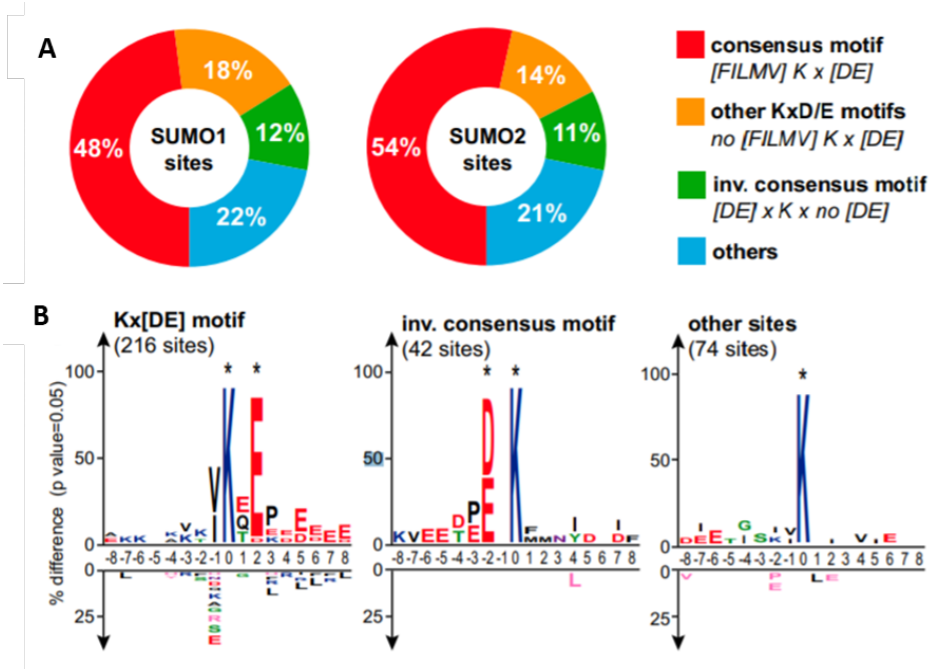


Figure 6. Sites consensus de conjugaison à SUMO1 et SUMO2/3. (A) Fréquence des différents « motifs » de conjugaison à SUMO1 et SUMO2 identifiés parmi 332 sites de SUMOylation. (B) Représentations des acides aminés les plus fréquemment observés entourant le résidu lysine modifié par SUMO dans différents types de motifs (Impens *et al.*, 2014).

Les enzymes **SENP6** et **7** sont les seules à pouvoir « éditer » les chaînes polySUMOylées, c'est-à-dire à cliver la liaison entre deux SUMO à l'intérieur des chaînes. Ces SENP sont essentielles au maintien d'une réserve cellulaire de SUMO libre au sein de la cellule (Siyaun *et al.*, 2020).

Les SENP ont des spécificités de reconnaissance pour les différentes isoformes de SUMO. **SENP1** et **SENP2** peuvent cliver tous les précurseurs SUMO lors de l'étape de maturation grâce à leur activité protéolytique, cependant, elles clivent préférentiellement **SUMO1**. De plus, **SENP3** et **SENP5** sont principalement impliqués dans la déSUMOylation de **SUMO2/3**, tandis que **SENP6** et **SENP7**, semblent avoir une préférence pour les chaînes polySUMO2/3 ou des chaînes mixtes SUMO1/SUMO2/3 (Hattersley *et al.*, 2011 ; Hickey *et al.*, 2012).

Deux autres classes de déSUMOylases, distinctes des SENPs, ont également été identifiées chez les mammifères : les « **deSUMOylating isopeptidases » (DeSI 1 et 2)** et les **USPL1** :

- DeSI-1 possède une faible activité d'édition des chaînes polySUMOylées.

- DeSI 2 reste à l'heure actuelle mal caractérisée.

- USPL1 possède une forte activité déSUMOylase et une forte capacitée d'édition des chaînes polySUMOylées (Schulz *et al.*, 2012 ; Shin *et al.*, 2012).

4. Les motifs consensus SUMO

La reconnaissance du substrat par la machinerie de SUMOylation se fait majoritairement *via* les enzymes E2 et E3 et, contrairement à l'ubiquitine, peut impliquer un **motif consensus** de conjugaison. La caractérisation des premiers sites de modification par SUMO a permis de mettre en évidence l'existence de ce **motif consensus** autour de la lysine modifiée. Ce motif possède la structure **ψKxD/E**, où ψ est un acide aminé hydrophobe, K est la lysine conjuguée à SUMO, x correspond à n'importe quel un acide aminé, et D/E est soit un acide aspartique soit un acide glutamique (Rodriguez *et al.*, 2001) **(Figure 6)**. Ce motif consensus interagit directement avec l'enzyme de conjugaison E2 UBC9 et renforcerait l'affinité de cette dernière pour la protéine cible (Bernier-Villamor *et al.*, 2021).

Ce type de motif est en particulier présent dans les isoformes SUMO2/3, expliquant ainsi la propension des ces peptides à former des chaînes polySUMOylées (Rodriguez *et al.*, 2001).

L'identification de plusieurs centaines de sites par des approches de protéomique à haut-débit a permis de montrer que la SUMOylation ne se faisait pas uniquement sur ces motifs consensus

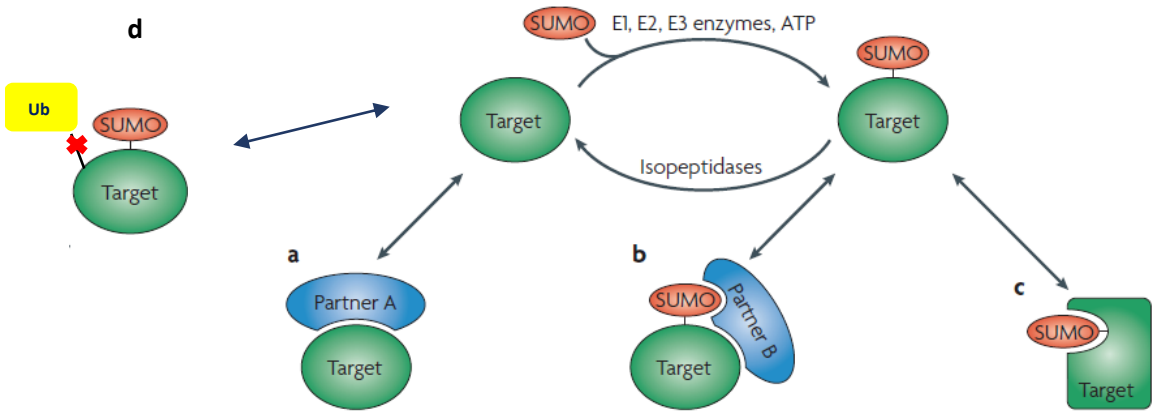


Figure 7. Conséquences de la SUMOylation d'une protéine cible. (a) la SUMOylation peut perturber l'interaction entre la cible et son partenaire. (b) la SUMOylation peut fournir un nouveau site de liaison pour un partenaire (par exemple *via* un motif d'interaction SIM). (c) la SUMOylation peut entraîner un changement conformationnel de la cible modifiée. (d) Le polypeptide SUMO peut entrer en compétition avec d'autres modifications post-traductionnelles, comme l'ubiquitination, modifiant ainsi l'équilibre entre les différentes formes modifiées des protéines cibles (Adapté de Geiss-Friedlander et Melchior, 2007).

mais pouvait se faire sur des motifs dits « inversés » (DExK) ou sur des lysines ne présentant aucun environnement particulier (Impens *et al.*, 2014) **(Figure 6)**.

5. Conséquences de la SUMOylation

La SUMOylation joue un rôle important dans la régulation de nombreuses fonctions cellulaires. La fixation de SUMO sur une protéine cible peut modifier la stabilité, la localisation ou l'activité de cette dernière, *via* la modification des interactions inter- ou intramoléculaires du substrat modifié. En général, les conséquences moléculaires de la SUMOylation sont divisées en trois catégories principales (Girdwood *et al.*,2003; Geiss-Friedlander et Melchior, 2007)**(Figure 7)**:

(i) la protéine SUMO peut masquer un site de liaison d'une protéine menant à une perturbation de l'interaction du substrat avec d'autres molécules (protéines ou ADN, par exemple).

(ii) la protéine SUMO conjuguée peut créer de nouveaux motifs d'interaction avec un nouveau partenaire.
En effet, certains motifs protéiques sont capables d'interagir de façon non covalente avec les peptides SUMO. Ces motifs, nommés **SIM (SUMO Interacting Motif)** ou SBM (SUMO Binding Motif) possèdent une séquence de type (V/I)x(V/I)(V/L) (Song *et al.*, 2004). La SUMOylation d'une protéine permet donc de créer ou de stabiliser des interactions avec des facteurs présentant ces motifs de liaison à SUMO (Hendriks et Vertegaal, 2016 ; Chang et Yeh, 2020).
Certaines ligases E3 spécifiques de l'Ubiquitine possèdent plusieurs motifs SIM, ce qui leur permet de fixer avec une forte affinité les protéines polySUMOylées (Kumar *et al.*, 2017). Ces enzymes E3, nommées STUbL (SUMO-targeted Ubiquitin ligases), catalysent l'ubiquitination de protéines polySUMOylées, ce qui aboutit à la formation de chaînes mixtes SUMO-ubiquitine et à la dégradation de ces protéines par le protéasome (Hendriks et Vertegaal, 2016).

A ce jour, deux STUbL ont été identifiées chez l'homme : l'ubiquitine ligase E3 RNF4 (Ring-finger protein 4) (Lallemand-Breitenbach *et al.*, 2008 ; Tatham *et al.*, 2008) et Arkadia (également appelé RNF111) (Erker *et al.*, 2013).
Le substrat le plus étudié de RNF4 est la protéine PML. En réponse à un stress oxydant, la protéine PML est SUMOylée, puis ubiquitinées par RNF4, et enfin dégradée par le protéasome (Lallemand-Breitenbach *et al.*, 2008).

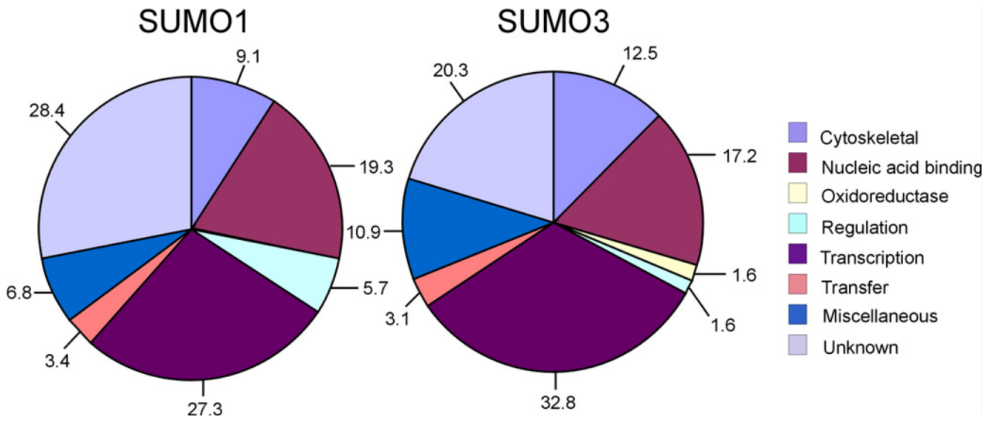


Figure 8. Les différentes catégories de protéines ciblées par la SUMOylation. La plupart des protéines identifiées par des analyses protéomiques sont des facteurs de transcription, des protéines de liaison aux acides nucléiques ou des composants structurels de la cellule (Rosas-Acosta *et al.*, 2005).

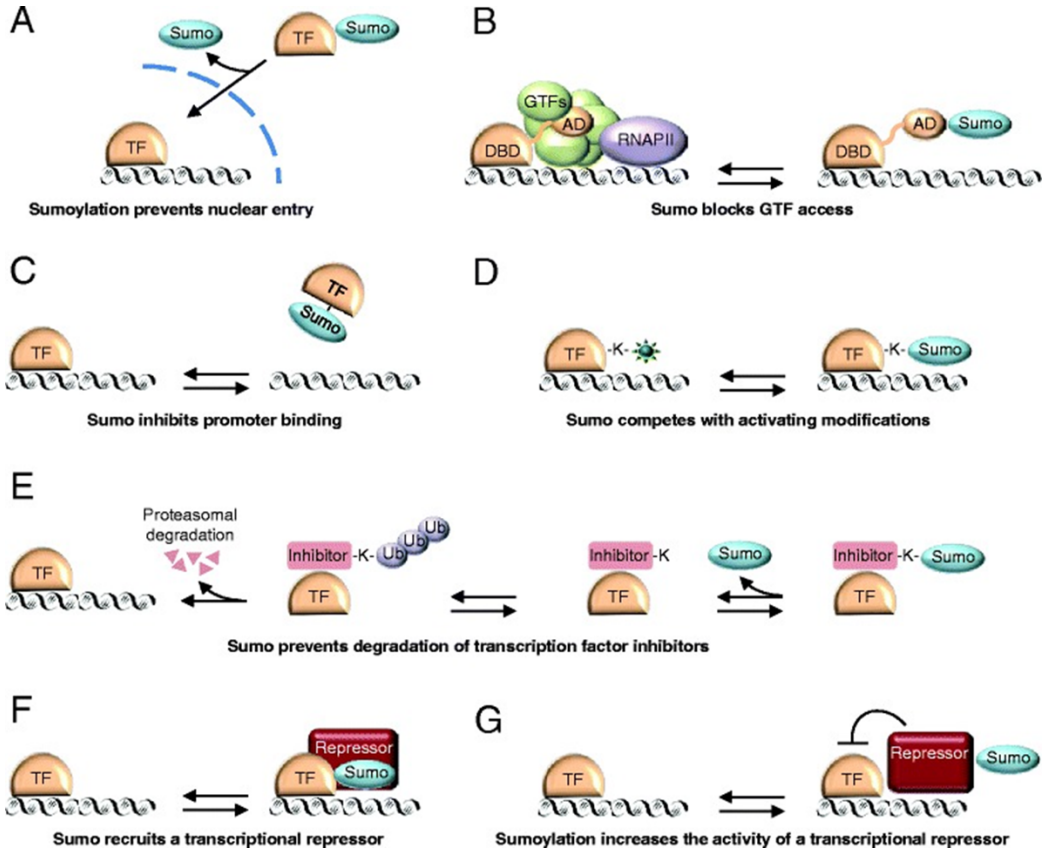


Figure 9. Les différents mécanismes d'inhibition de la transcription par SUMO. (a) Inhibition de l'import nucléaire de facteurs de transcriptions. (b) Inhibition du recrutement de facteurs généraux de la transcription. (c) Inhibition de la liaison de facteurs de transcription sur les régions de type promoteur. (d) Compétition avec d'autres MPT (acétylation, méthylation ou ubiquitination), activant la transcription. (e) Blocage de la dégradation d'un inhibiteur d'un facteur de transcription. (f) Recrutement d'un répresseur transcriptionnel au niveau de la chromatine. (g) Augmentation de l'activité d'un répresseur transcriptionnel (Enserink, 2015).

(iii) SUMO peut entrer en compétition avec d'autres MPTs, perturbant ainsi l'équilibre entre les différentes formes modifiées du substrat. Aujourd'hui, plus de 6700 protéines ont été identifiées comme cibles potentielles de SUMO. La majorité sont des protéines nucléaires associées à des rôles importants dans la régulation de la transcription, la structure de la chromatine (Wilson et Hochstrasser, 2016), le transport nucléocytoplasmique (Ptak et Wozniak, 2017) et la réparation de l'ADN (Dantuma et van Attikum, 2016) **(Figure 8)**.

6. Exemple de fonctions de la SUMOylation

6.1 SUMO et régulation de la transcription

De nombreuses protéines impliquées dans l'expression des gènes peuvent être SUMOylées (facteurs de transcription, activateurs ou répresseurs, ARN polymérases Pol I, Pol II et Pol III, etc.). Ceci suggère que la SUMOylation joue un rôle essentiel dans la régulation de l'expression des gènes. La SUMOylation de facteurs de transcription peut mener d'une part au recrutement de facteurs ayant une activité de remodelage de la chromatine, et d'autre part à la formation de complexes d'inhibition de la transcription. Bien que l'effet de la SUMOylation sur la transcription soit dépendant du contexte, elle est généralement associée à la répression de la transcription (Rosonina *et al.*, 2017 ; Wotton *et al.*, 2017 ; Boulanger *et al.*, 2021) **(Figure 9)**. Par exemple, il a été montré que la SUMOylation contrôle certaines réponses immunitaires innées, notamment en réprimant l'expression du gène *Ifnb1* (codant pour la cytokine antivirale interféron-β ; IFN-β) (Decque *et al.*, 2016). La SUMOylation inhibe en effet l'expression du gène *Ifnb1* en réponse à un stimulus comme le LPS bactérien.

D'un point de vue mécanistique, SUMO inhibe l'expression du gène *Ifnb1* en se liant à 3 régions régulatrices, situées en amont du promoteur d'*ifnb1* et apparentées à des « enhancers » (nommées S-IRE1, SIRE2 et S-IRE3 pour SUMO-*Ifnb1* 'regulatory elements').

La présence de facteurs SUMOylés sur ces sites permettrait d'inhiber leur activité « enhancer » et donc de diminuer l'expression du gène *Ifnb1*. L'inhibition globale de la SUMOylation dans un modèle de cellules déficientes pour le gène *ubc9* conduit ainsi à une transcription forte et prolongée du gène *Ifnb1* et à une forte réponse inflammatoire (Decque *et al.*, 2016).

Plusieurs études ont cartographié la distribution de SUMO au niveau de la chromatine, en utilisant des approches de type ChIP (ImmunoPrecipitation de la Chromatine) couplées à des analyses transcriptomiques (Rosonina *et al.*, 2010 ; Neyret-Kahn *et al.* 2013 ; Liu *et al.* 2012).

Ces études montrent que la SUMOylation touche des protéines distribuées sur l'ensemble du génome. Ces protéines SUMOylées sont observées dans les régions intergéniques, dans les exons et les introns et principalement au niveau d'éléments régulateurs tels que les promoteurs, les enhancers, les silencers, ou les isolateurs de la chromatine. En particulier, dans le cas des gènes transcrits par l'ARN polymérase II, une quantité importante de protéines SUMOylées se trouve en amont du site de démarrage de la transcription (TSS) (Boulanger *et al.*, 2021).

L'étude de Neyret-Kahn *et al.*, réalisée sur des fibroblastes humains, a montré que les 3 isoformes SUMO peuvent être observées au niveau des promoteurs de gènes (Neyret-Kahn *et al.*, 2013). Certains protéines SUMOylées sont associées à l'expression des gènes des histones, des ARNr et des ARNt et corrèlent avec des niveaux élevés de recrutement des ARN polymérases. En revanche, des protéines SUMOylées ont également été observées au niveau de promoteurs inactifs ou peu actifs, et corrèlent avec la présence de « marques H3K27me3 », une modification d'histone associée à un état transcriptionnellement inactif de la chromatine (Neyret-Kahn *et al.*, 2013).

6.2 SUMOylation et réparation de l'ADN

La SUMOylation est impliquée dans plusieurs voies de la réparation d'ADN. Par exemple, SUMO est indispensable à l'activité de l'enzyme de réparation thymine-ADN glycosylase (TDG). En modifiant sa conformation, SUMO réduit l'affinité de liaison de l'enzyme TDG pour l'ADN, ce qui permet sa libération dans le nucléoplasme (Smet-Nocca *et al.*, 2011).
De nombreuses protéines de réparation de l'ADN, comme des nucléases, sont SUMOylées en réponse aux dommages à l'ADN chez la Levure et chez l'Homme (Sarangi *et al.*, 2014).
Dans ce contexte, l'exemple le plus étudié est celui de PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), une protéine auxiliaire de l'ADN polymérase impliquée dans la réplication et la réparation de l'ADN.

6.3 SUMOylation et réponse aux stress

La SUMOylation est importante pour la réponse cellulaire à différents types de stress. De multiples inducteurs de stress cellulaire peuvent diminuer ou augmenter la quantité globale de substrats SUMOylés.

Les chocs thermiques, les dommages à l'ADN et le stress oxydant peuvent induire une hyperSUMOylation des protéines conjuguées à SUMO2/3 (Saitoh et Hinchey, 2000). Lors d'un choc thermique, par exemple, une grande partie des substrats hyperSUMOylés sont impliqués dans la réponse spécifique à ce stress (Golebiowski *et al.*, 2009). Cette hyperSUMOylation globale pourrait être due à la dégradation des déSUMOylases, notamment les SENP, connues pour être thermosensibles, conduisant ainsi à une altération de l'équilibre de conjugaison/déconjugaison (Pinto *et al.*, 2012).

Le stress oxydant est défini comme une perturbation de la balance entre la production (exogène ou endogène) d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et leur élimination par les cellules. Produits en excès, les ROS sont toxiques et peuvent endommager plusieurs composants intracellulaires (Sies *et al.*, 2017). Cependant, à des niveaux faibles, la production de ROS peut également être indispensable au bon fonctionnement de l'organisme. Dans ce cas, les ROS agissent en tant que seconds messagers essentiels et spécifiques de nombreuses voies de signalisation cellulaire (« Redox signaling ») (Veal et *al*, 2007 ; Paulsen et Carroll, 2010).

Le stress oxydant peut augmenter ou diminuer les niveaux de SUMOylation de protéines spécifiques, en fonction des concentrations de ROS présents à un instant donné (Stankovic-Valentin et Melchior, 2018). Ces modifications de SUMOylation jouent un rôle crucial dans la réponse cellulaire au stress oxydant et le maintien d'un équilibre rédox optimal dans la cellule (Tempe *et al.*, 2008).

A des concentrations faibles, le H_2O_2 peut induire une déSUMOylation globale *via* l'inactivation transitoire des enzymes SUMO E1 et E2.

En particulier, le H_2O_2 peut induire la formation d'un pont disulfure entre les cystéines du site catalytique des enzymes SUMO E1 (SAE2) et SUMO E2 (UBC9), ce qui bloque de manière réversible la machinerie de SUMOylation (Bossis et Melchior, 2006). Cette oxydation et les déSUMOylations associées favorisaient la survie des cellules en réponse au stress oxydant (Stankovic-Valentin *et al.*, 2016).

Le H_2O_2 peut également induire une déSUMOylation globale en ciblant les déSUMOylases. L'oxydation de plusieurs cystéines de la déSUMOylase SENP3, localisées dans un domaine sensible à l'équilibre rédox, stabilise cette dernière en inhibant sa dégradation par le protéasome (Huang *et al.*, 2009 ; Yan *et al.*, 2010). SENP3 peut ainsi déSUMOyler une plus grande quantité de substrats (Han *et al.*, 2010).

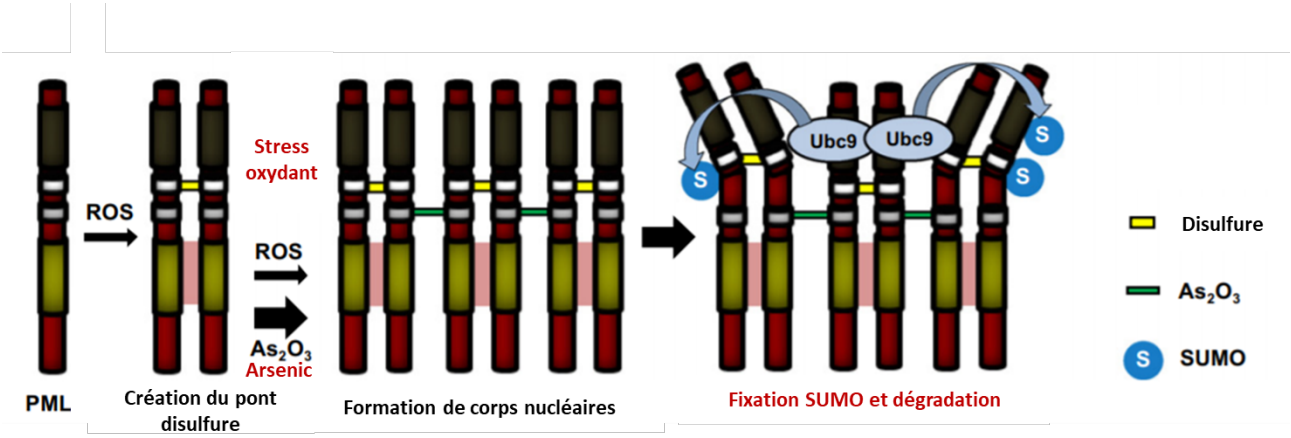


Figure 10. Modulation indirecte de la SUMOylation par les ROS. Le trioxyde d'arsenic (As_2O_3) induit un stress oxydant aboutissant d'abord à la polymérisation des protéines PML, puis à leur SUMOylation *via* le recrutement d'UBC9. La SUMOylation de PML peut éventuellement être suivie du recrutement de STUBl, comme la protéine RNF4, induisant la dégradation de ces protéines par le protéasome (Adapté de Jeanne *et al.*, 2010).

En revanche, une forte concentration de ROS peuvent induire une hyperSUMOylation massive en inactivant les déSUMOylases (Bossis et Melchior, 2006). L'inactivation des déSUMOylases par les ROS peut être irréversible ou réversible. Le H_2O_2 inhibe l'activité de SENP2 en oxydant irréversiblement sa cystéine catalytique. En revanche, l'inactivation de SENP1 par le H_2O_2 passe par une dimérisation de cette dernière, *via* l'établissement d'un pont disulfure intermoléculaire, qui est, elle, réversible (Xu *et al.*, 2008).

Une augmentation globale de la SUMOylation peut également être induite par une variation de l'activité de SUMO E3 ligases. Une étude a montré que le H_2O_2 pouvait en effet activer indirectement la ligase PIAS1 en induisant sa phosphorylation. Cela favorise l'hyperSUMOylation de certains facteurs de transcription impliquées dans la réponse au stress oxydant (Leitao *et al.*, 2011).

La SUMOylation peut être modulée de façon « indirecte » par les ROS, comme dans le cas de la protéine PML. Cette protéine constitue l'élément de base de complexes nucléaires nommées « corps nucléaires PML », qui sont impliqués dans de nombreux processus biologiques comme la sénescence ou la réponse aux infections virales. En réponse à l'exposition à des agents oxydants forts, comme le trioxide d'arsenic (As_2O_3), les protéines PML peuvent se dimériser *via* la formation de ponts disulfures intermoléculaires.

Cet assemblage de protéines PML favorise le recrutement de la machinerie de SUMOylation et la SUMOylation de PML, qui induit en retour le recrutement de nombreuses protéines partenaires au niveau des corps nucléaires PML (Lallemand-Breitenbach et de Thé, 2018) (**Figure 10**).

6.4 Implication de la SUMOylation dans les pathologies humaines

Un grand nombre de protéines impliquées dans diverses pathologies, allant de la neurodégénérescence au cancer, peuvent être SUMOylées. La modulation de la SUMOylation pourrait donc constituer une cible thérapeutique potentielle pour ces pathologies (Celen et Sahin, 2020).

6.4.1 SUMO et cancer

De nombreuses études se sont concentrées sur le lien potentiel entre la SUMOylation et la carcinogenèse. En particulier, une dérégulation de l'expression de la protéine SUMO et surtout de la machinerie de SUMOylation a été observée dans différents types de cancer (Seeler et Djean, 2017 ; Gâtel *et al.*, 2020).

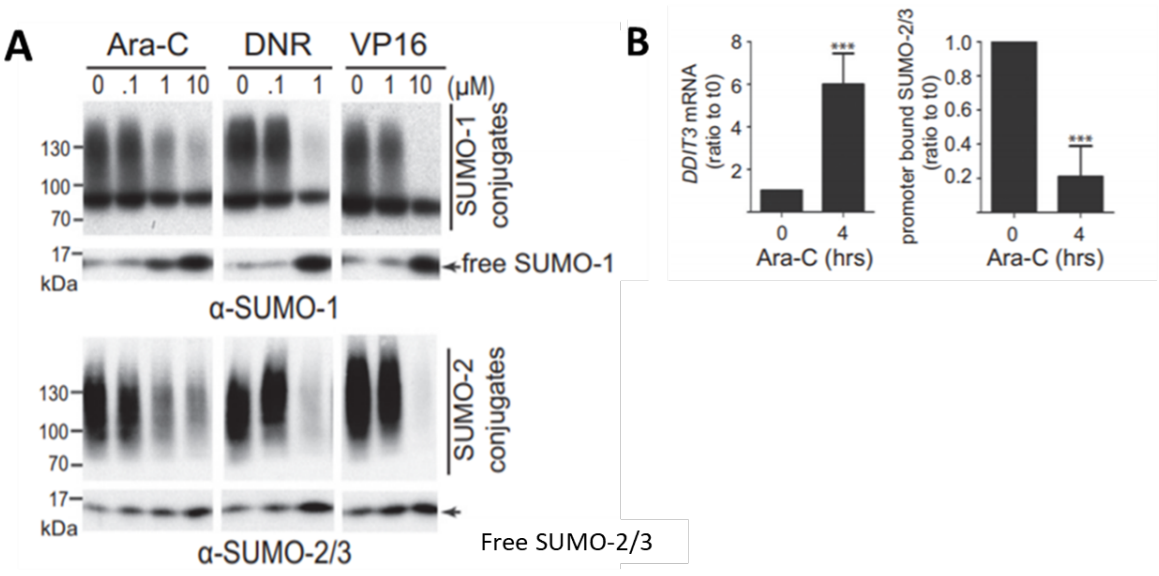


Figure 11. Inhibition de la SUMOylation dans les cellules tumorales de leucémie myéloïde aiguë (LMA). ***(A)*** Diminution de la SUMOylation globale des protéines conjuguées à SUMO1 et SUMO2/3 induite par la cytarabine (Ara-C), la daunorubicine (DNR) ou l'étoposide (VP16) dans des cellules HL60. ***(B)*** Augmentation de l'expression du gène *DDIT3* et diminution de la fixation de SUMO dans la région du promoteur de ce gène en réponse au traitement par Ara-C dans des cellules de LAM (Adapté de Bossis *et al.*, 2014).

Une surexpression de l'enzyme de conjugaison UBC9 a été observée dans divers cancers humains tels que l'adénocarcinome pulmonaire, le carcinome ovarien et le mélanome (McDoniels-Silvers *et al.*, 2002 ; Mo *et al.*, 2005 ; Moschos et Mo, 2006).

La surexpression d'UBC9 dans le cancer du sein est associée à une chimiorésistance et à un mauvais pronostic (Chen *et al.*, 2011). La diminution du niveau d'UBC9 dans ces cellules cancéreuses pourrait être bénéfique. Il a été démontré qu'une sous-expression de SAE1/SAE2 réduit également l'agressivité des cancers du sein (Kessler *et al.*, 2012).

La SUMOylation joue également un rôle important dans la réponse des cellules tumorales à certains agents de chimiothérapies comme la cytarabine (Ara-C) ou la daunorubicin (DNR). Ces agents, utilisés contre les leucémies myéloïdes aiguës (LMA), induisent la production de ROS qui inactivent la machinerie de SUMOylation dans un modèle cellulaire de leucémie et aboutit à une déSUMOylation massive (Bossis *et al.*, 2014). Cette déSUMOylation est associée à la surexpression de certains gènes pro-apoptotiques, tel que le gène *DDIT3*, (DNA Damage-Induced Transcript 3) et favorise la mort des cellules traitées. De façon intéressante, certaines lignées cellulaires déficientes dans l'axe ROS/SUMO se révèlent être insensibles à l'action de ces agents de chimiothérapie (Bossis *et al.*, 2014) **(Figure 11)**.

6.4.2 SUMOylation et maladies cardiaques

Un lien entre SUMOylation et maladies cardiaques a également été proposé dans plusieurs études. L'équilibre SUMOylation/déSUMOylation joue un rôle important dans la fonction cardiaque, en particulier dans le développement du cœur, son métabolisme et sa capacité d'adaptation au stress (Gupta *et al.*, 2016 ; Liu *et al.*, 2017). Une diminution de la quantité de SUMO1 a été associée à une insuffisance cardiaque chez l'homme et dans des modèles murins et porcins (Kho *et al.*, 2011). La surexpression de SUMO1, elle, améliore nettement la fonction cardiaque chez la souris (Kho *et al.*, 2011).

L'augmentation de la SUMOylation, médiée cette fois-ci par une surexpression de l'enzyme UBC9, diminue la fibrose, réduit l'hypertrophie et améliore la fonction cardiaque et la survie dans des modèles de cardiomyopathie (Gupta *et al.*, 2016 ; Liu *et al.*, 2017).

6.4.3 SUMOylation et maladies neurodégénératives

Le rôle de la SUMOylation dans les maladies neurodégénératives est un domaine de recherche actif (Princz et Tavernarakis, 2020). Les maladies neurodégénératives sont caractérisées par l'accumulation toxique de protéines sous forme d'inclusions ou d'agrégats dans le système nerveux. Il a été démontré que la conjugaison de SUMO pouvait augmenter la solubilité de certaines protéines associées à la neurodégénérescence afin d'éviter la formation d'agrégats protéiques toxiques. Par exemple, l'α-synucléine, une protéine fortement exprimée dans le cerveau et associée à la maladie de Parkinson, peut être modifiée par SUMO2 ce qui augmente sa solubilité et bloque son agrégation (Krumova *et al.*, 2011). En revanche, sa modification par SUMO1 favorise son agrégation et inhibe sa dégradation, contribuant ainsi au développement de la maladie (Oh *et al.*, 2011). De façon similaire, la surexpression de SUMO1 augmente l'agrégation et inhibe la dégradation de la protéine Tau impliquée dans le développement de la maladie d'Alzheimer (Luo *et al.*, 2014).

6.4.4 SUMOylation et maladies inflammatoires

La SUMOylation est un processus de régulation essentiel de plusieurs protéines impliquées dans l'immunité innée et dans les réponses inflammatoires. Elle est en particulier essentielle dans la réponse immunitaire contre divers agents pathogènes intracellulaires (virus et certaines bactéries). Plusieurs études ont suggéré que la SUMOylation pouvait être impliquée dans certaines maladies inflammatoires chroniques, touchant notamment l'intestin (voir ci-dessous).

III. SUMOylation et inflammation intestinale

La SUMOylation joue un rôle important dans la physiologie intestinale. Elle est essentielle dans le maintien de l'homéostasie et le renouvellement de l'épithélium, ainsi que dans les interactions hôte-bactéries pathogènes au cours des infections intestinales. Plus récemment, une implication de la SUMOylation dans certaines pathologies intestinales humaines a été mise en évidence, notamment dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).

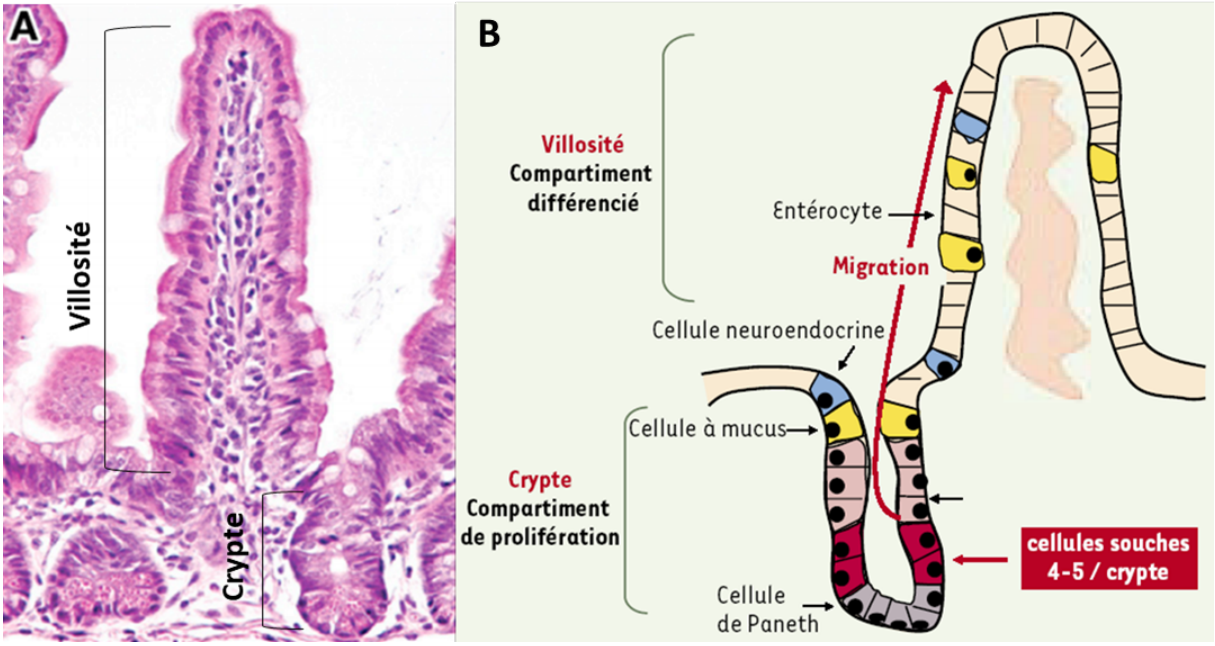


Figure 12. Structure schématique d'une villosité intestinale et d'une crypte associée. (A) Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine d'une villosité intestinale et d'une crypte (Adapté d'après Hans, 2013)**. (B)** Au niveau des cryptes intestinales se trouvent des cellules souches proliférant et donnant naissance à quatre types de cellules différents : les entérocytes, les cellules caliciformes, les cellules de Paneth et les cellules entéro-endocrines (Andreu *et al.*2006).

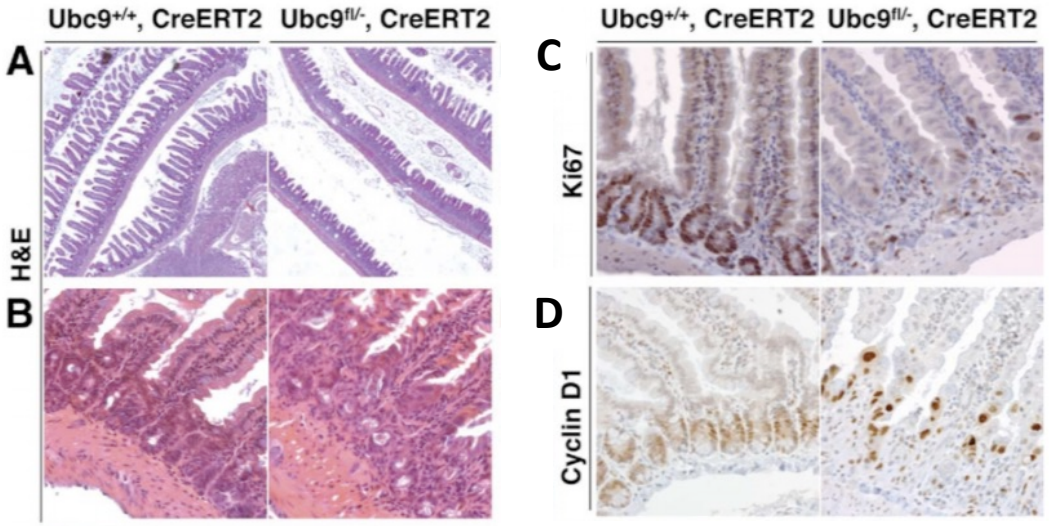


Figure 13. Rôle de la SUMOylation dans la prolifération des cellules souches des cryptes intestinales. Coupes représentatives de l'intestin grêle provenant de souris témoins **Ubc9$^{+/+}$ CreERT2** et de souris invalidées **Ubc9$^{fl/-}$ /ROSA26-CreERT2** (KO inductible). **(A et B)** Coloration hématoxyline/éosine montrant une déformation sévère de la muqueuse et un raccourcissement des villosités **(A)**, accompagnée d'une forte diminution de la taille et du nombre de crypte dans la zone proliférative **(B)** des souris **Ubc9$^{fl/-}$ /ROSA26-CreERT2**. **(C et D)** Coloration immunohistochimique avec un anticorps anti-Ki67 (marqueur de prolifération) montrant que l'expression de Ki67 est beaucoup plus faible chez les souris **Ubc9$^{fl/-}$ /ROSA26-CreERT2** comparée aux souris témoins. Grossissements originaux : **(A)** 2 **; (B, C et D)** 20 ; (Demarque *et al.*, 2011).

1. SUMOylation et renouvellement de l'épithélium intestinal

L'intégrité de l'épithélium intestinal est cruciale pour préserver l'homéostasie de l'organisme. Le maintien de la fonction de barrière dépend de plusieurs facteurs et notamment d'un renouvellement cellulaire rapide. Chez les mammifères, l'épithélium intestinal est caractérisé par un renouvellement permanent et complet tous les 4-5 jours environ (Umar, 2010).

Le renouvellement de l'épithélium intestinal se fait au niveau des cryptes intestinales dans lesquelles se situent des cellules souches. Chaque 12-16h, ces cellules souches se divisent, par mitose asymétrique, pour donner une nouvelle cellule souche et une cellule destinée à se différencier en 4 types de cellules épithéliales se distinguant par leurs fonctions : les entérocytes, les cellules entéro-endocrines, les cellules caliciformes (cellules à mucus) et les cellules de Paneth (Pinto et Clevers, 2005) **(Figure 12)**. Contrairement aux cellules de Paneth qui restent localisées au niveau des cryptes, les entérocytes, les cellules caliciformes et les cellules entéro-endocrines migrent de façon continue le long de l'axe villositaire et atteignent en environ 3 jours l'extrémité des villosités où elles sont éliminées par mort cellulaire programmée (apoptose) ou par extrusion (Pinto et Clevers, 2005 ; Flier et Clevers, 2009 ; Demarque *et al.*, 2011) **(Figure 12)**. Le renouvellement de l'épithélium intestinal est un processus complexe et dynamique.

Le rôle indispensable de la SUMOylation dans l'homéostasie intestinale, et en particulier dans le maintien et le renouvellement de l'épithélium intestinal, a été mis en évidence pour la première fois par les travaux de Demarque *et al.*

Ils ont démontré, grâce à des souris transgéniques KO inductibles pour l'enzyme de conjugaison E2 UBC9, qu'une perte globale de SUMOylation induisait une altération sévère et rapide des fonctions intestinales (se traduisant par une perte de poids corporel jusqu'à 20% et une diarrhée aigüe) et aboutissait à la mort des animaux en moins de 6 jours (Demarque *et al.*, 2011).

La perte d'UBC9 dans ce modèle affecte principalement le compartiment prolifératif de l'intestin grêle. L'altération intestinale se traduit en premier lieu par une déformation sévère de la muqueuse de l'intestin grêle, accompagnée d'un raccourcissement des villosités chez les souris KO inductibles comparées aux souris témoins **(Figure 13)**. Au niveau du compartiment prolifératif, l'hypoSUMOylation induite par la perte d'UBC9 aboutit à une diminution sévère de la taille et du nombre des cryptes, un arrêt de la prolifération des cellules souches et une apoptose massive au niveau des cryptes **(Figure 13)**.

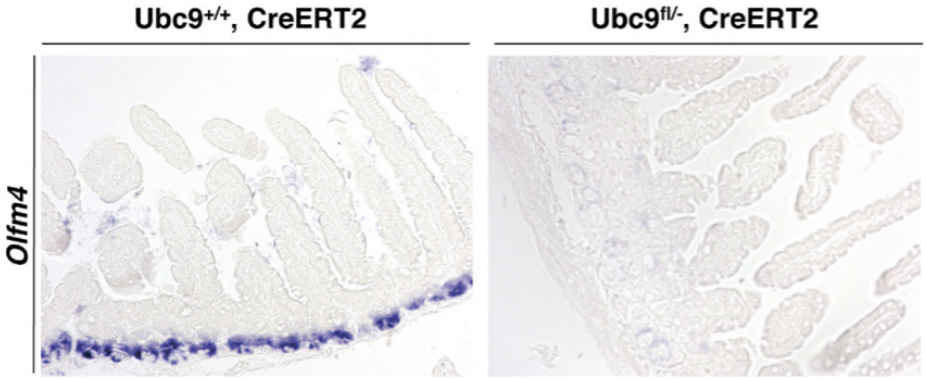


Figure 14. Perte rapide et complète des cellules souches intestinales Lgr^{5+} chez les souris Ubc9^{KO}. L'expression du gène *olfm4* (un marqueur des cellules souches intestinales Lgr5^{+}) n'est détectée que sur des coupes d'intestin grêle des souris adultes témoins **Ubc9$^{+/+}$ CreERT2** et pas sur des coupes de souris invalidées **Ubc9$^{fl/-}$ /ROSA26-CreERT2**. Grossissement d'origine : 10 (Demarque *et al.*, 2011).

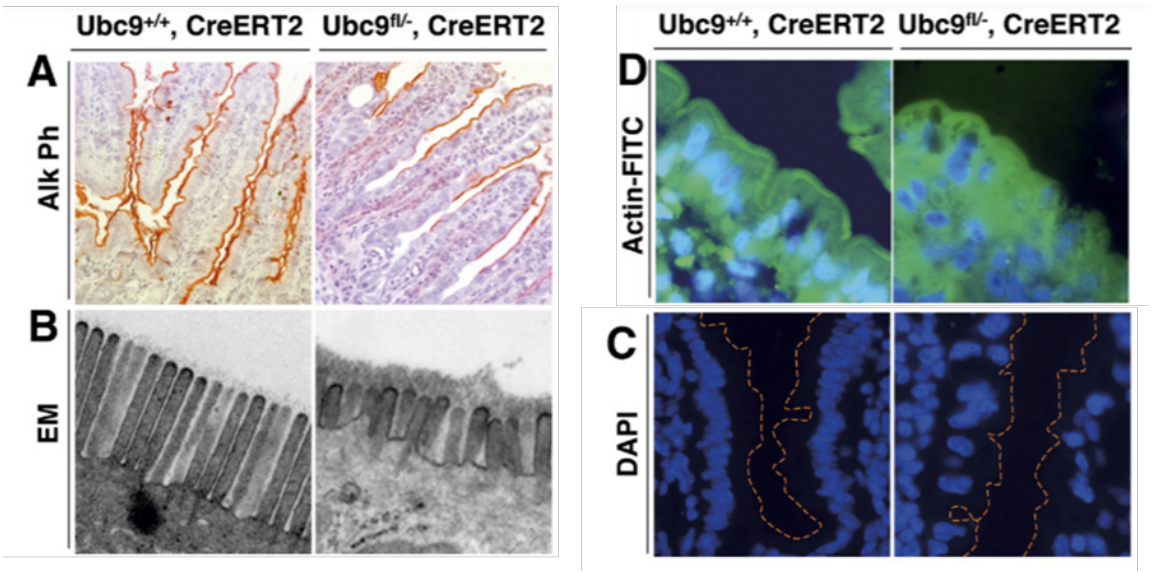


Figure 15. Impact de la diminution de la SUMOylation sur la différenciation et la polarité des entérocytes. Coupes représentatives de l'intestin grêle provenant de souris témoins **Ubc9$^{+/+}$ CreERT2** et de souris invalidées **Ubc9$^{fl/-}$ /ROSA26-CreERT2**. **(A)** Expression de la phosphatase alcaline (Alk Ph), un marqueur de différenciation spécifique des entérocytes. La phosphatase alcaline n'est plus détectable dans le tiers inférieur des villosités contenant les entérocytes différenciés après la délétion du gène Ubc9. **(B)** Images de microscopie électronique à transmission de la bordure en brosse des entérocytes montrant un fort raccourcissement des microvillosités au niveau des entérocytes des mutants par rapport aux témoins. **(C)** Coloration au DAPI montrant une désorganisation des noyaux des entérocytes KO pour UBC9. **(D)** Marquage anti-actine montrant une absence d'accumulation d'actine du coté apicale chez les entérocytes de souris invalidées et donc une désorganisation du cytosquelette de ces cellules. Grossissements : (A) 6000 ; (B) 20 ; (C et D) 60 (Demarque *et al.*, 2011).

En outre, l'absence d'UBC9 conduit également à la disparition complète et rapide des cellules souches à longue durée de vie Lgr5^{+}, qui sont responsables du renouvellement de l'épithélium intestinale **(Figure 14)**. Une forte altération de localisation cellulaire suivie par une disparition totale des cellules de Paneth est aussi observée en absence de SUMOylation. Ces données illustrent le rôle crucial de la SUMOylation dans le maintien de l'organisation des cryptes intestinale et dans la prolifération et la survie des cellules souches de l'épithélium intestinal.

La SUMOylation joue également un rôle majeur dans le contrôle de la différenciation des cellules caliciformes. En effet, la perte globale de SUMOylation aboutit à une perte de spécificité et de fonctionnalité des cellules caliciformes.

L'hypoSUMOylation affecte enfin la différenciation des cellules entérocytaires. En effet, un raccourcissement des microvillosités à la surface apicale des entérocytes ainsi qu'une perte de la polarité baso-apicale, marquée par une désorganisation des noyaux des cellules entérocytaires, est observée au niveau de l'épithélium des souris KO pour UBC9 **(Figure 15)**. Enfin, l'absence de SUMOylation altère profondément l'organisation du cytosquelette d'actine des entérocytes (Demarque *et al.*, 2011) **(Figure 15)**.

Plus récemment, Karhausen *et al.* ont montré que l'enzyme UBC9 et les protéines SUMOylées (et plus particulièrement les protéines conjuguées à SUMO2/3) étaient abondantes au niveau des cryptes de l'intestin grêle chez la souris.

De plus, les peptides SUMO1 et SUMO2/3 libres (c'est-à-dire non conjugués) sont exprimées de manière différentielle le long de l'axe crypte-villosité de l'intestin grêle et du colon. Ces données suggèrent que la SUMOylation est fortement régulée dans des conditions physiologiques au niveau de l'épithélium intestinal (Karhausen *et al.*, 2018).

L'ensemble de ces données montrent que la SUMOylation est un acteur clé de l'homéostasie intestinale et pose la question de son rôle potentiel dans les pathologies intestinales.

2. SUMOylation et Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin

L'inflammation est une réponse physiologique primaire à des stress potentiellement nocifs comme une infection ou une lésion tissulaire. Généralement, le rôle de l'inflammation est bénéfique et essentiel pour l'organisme. Toutefois, celle-ci peut devenir néfaste si elle est non contrôlée (en intensité ou en durée) et menace directement le maintien de l'homéostasie intestinale.

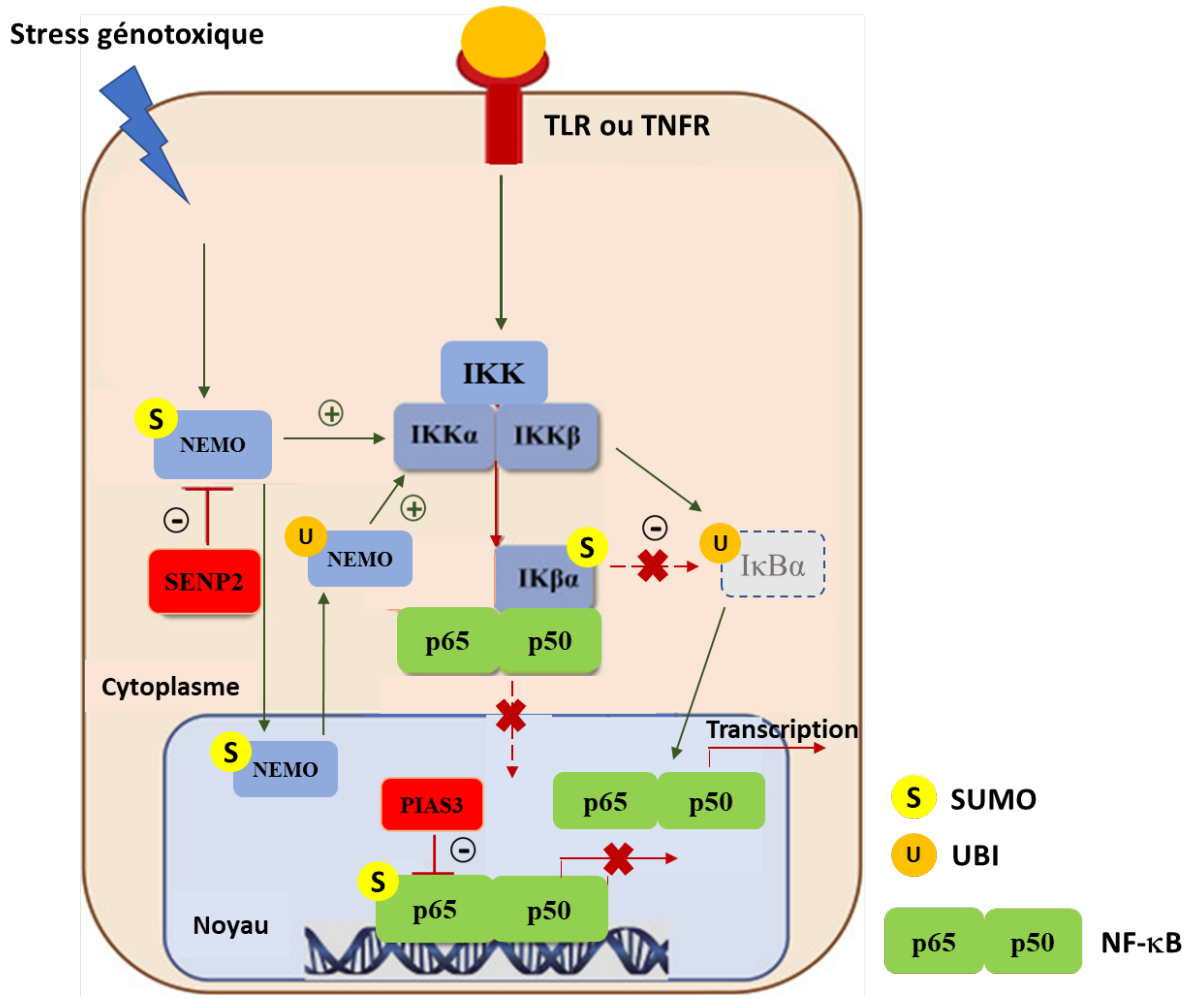


Figure 16. Schéma récapitulatif du rôle de la SUMOylation dans la voie de signalisation NF-κB. De nombreux facteurs impliqués dans la voie de signalisation NF-κB peuvent être SUMOylés. Ces modifications régulent soit positivement (+) soit négativement (-) l'activation du facteur de transcription NF-κB (Adapté de Adorisio *et al.*, 2017).

Dans ce cas, la réaction inflammatoire peut provoquer des lésions tissulaires, contribuant au développement de maladies inflammatoires aiguës ou chroniques (Karhausen *et al.*, 2021).

Diverses études ont montré l'implication de la SUMOylation dans la régulation de facteurs clés impliqués dans les voies de signalisation de l'inflammation (Adorisio *et al.*, 2017). La SUMOylation contrôle par exemple la voie de signalisation NF-κB, un axe central de contrôle de l'expression de gènes pro-inflammatoires, impliqué dans l'immunité innée et adaptative.

Le facteur de transcription NF-κB est en temps normal séquestré dans le cytoplasme par la protéine inhibitrice IκBα (NF-kappa-B Inhibitor alpha). En réponse à de nombreux stimuli d'origine exogène (comme des ligands de TLR ou du récepteur TNFR (Tumor Necrosis Factor Receptor), l'activation de la voie NF-κB aboutit à la phosphorylation d'IκBα par la kinase IκB (IKK). IKK est un complexe composé de deux sous-unités catalytiques (IKKα / IKK1 et IKKβ / IKK2) et d'une sous-unité de régulation IKKγ / NEMO (NF-κB Essential MOdulator). La protéine IκBα, une fois phosphorylé, est ensuite ubiquitynée et finalement dégradée par le protéasome. Ceci permet de libérer le facteur NF-κB initialement séquestré, qui est alors transloqué dans le noyau où il active la transcription de gènes cibles spécifiques codant par exemple pour des cytokines pro-inflammatoires. La régulation de la voie NF-κB par SUMO se fait à plusieurs niveaux. Elle implique différentes protéines qui seront soit activées, soit inhibées en réponse à la conjugaison de SUMO (Mabb et Miyamoto, 2007) **(Figure 16)**.

Le facteur IκBα peut être lui-même modifié par SUMO. En général, la SUMOylation d'IκBα par SUMO1 entre en compétition avec son ubiquitination. La forme SUMOylée d'IκBα ne peut donc pas être dégradée par le protéasome. Cette forme favorise donc le maintien de NF-κB dans un état « inactif », séquestré dans le cytosol (Desterro *et al.*, 1998 ; Guo *et al.*, 2004 ; Mabb et Miyamoto, 2007). Il a été démontré que la surexpression d'un homologue humain d'UBC9 peut retarder la dégradation d'IκBα et l'activation de NF-κB en réponse à la stimulation par le TNFα dans les cellules HeLa (Saltzman *et al.*, 1998). D'autres études ont cependant montré que la conjugaison de SUMO2/3 à IκBα pouvait au contraire augmenter l'activité de la voie NF-κB. En effet, la SUMOylation d'IκBα permet la formation de chaines mixtes entre l'ubiquitine et SUMO2/3, ce qui augmente la dégradation d'IκBα (et donc la translocation de NF-kB dans le noyau) (Culver *et al.*, 2010 ; Aillet *et al.*, 2012).

La SUMOylation peut également agir sur la protéine NEMO. Cette modification est indispensable pour activer la voie NF-κB en réponse aux dommages à l'ADN (Hay *et al.*, 2004 ; Adorisio *et al.*, 2017).

NF-κB est un facteur de transcription constitué par un dimère de protéines. Dans les cellules de Mammifères, le dimère de NF-κB le plus abondant est l'hétérodimère p65 (RelA) / p50 (Mabb et Miyamoto, 2007). En réponse au TNFα, la sous-unité p65 de NF-κB peut elle-même être SUMOylée par PIAS3. La SUMOylation de p65 réprime l'activité de transcription du facteur NF-κB (Liu *et al.*, 2012).

Par conséquent, SUMO joue un double rôle dans la voie NF-κB : il active certains facteurs de la voie, pour induire une réponse immunitaire innée efficace et inhibe d'autres facteurs, afin de prévenir une activation excessive. Cette régulation de la voie NF-κB dépendante de la SUMOylation est extrêmement importante. Une activation trop faible ou excessive de NF-κB peut en effet compromettre la réponse de l'hôte contre des agents pathogènes ou induire une inflammation chronique, favorisant ainsi le développement de certaines maladies auto-immunes (Adorisio *et al.*, 2017).

De façon intéressante, une étude centrée sur la réponse intestinale à un modèle d'ischémie/reperfusion a montré qu'une augmentation de la SUMOylation (en particulier des protéines conjuguées à SUMO2/3) chez des souris transgéniques surexprimant UBC9 protégeait les animaux contre les dommages ischémiques et atténuait l'inflammation (Karhausen *et al.*, 2018). L'hyperSUMOylation observée dans ce cadre favorise le maintien de l'intégrité de la barrière intestinal et prévient une inflammation dérégulée.

Elle corréle notamment avec une diminution de l'expression d'IL17A, une cytokine pro-inflammatoires clé de l'inflammation intestinale, et avec une augmentation de l'expression d'IL22, une interleukine aux propriétés anti-inflammatoires (Karhausen *et al.*, 2018).

Ces résultats illustrent le rôle potentiel de la SUMOylation dans le contrôle de l'inflammation intestinale.

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) regroupent principalement la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH). Ce sont des troubles gastro-intestinaux caractérisés par une inflammation chronique de l'intestin. La MC se caractérise par une inflammation transmurale et discontinue de la paroi intestinale qui peut atteindre l'ensemble du tube digestif.

En revanche, la RCH est caractérisée par une inflammation superficielle localisée principalement au niveau colique. Ces deux maladies évoluent par poussées inflammatoires de durée et fréquence très variables, séparées par des phases de rémission.

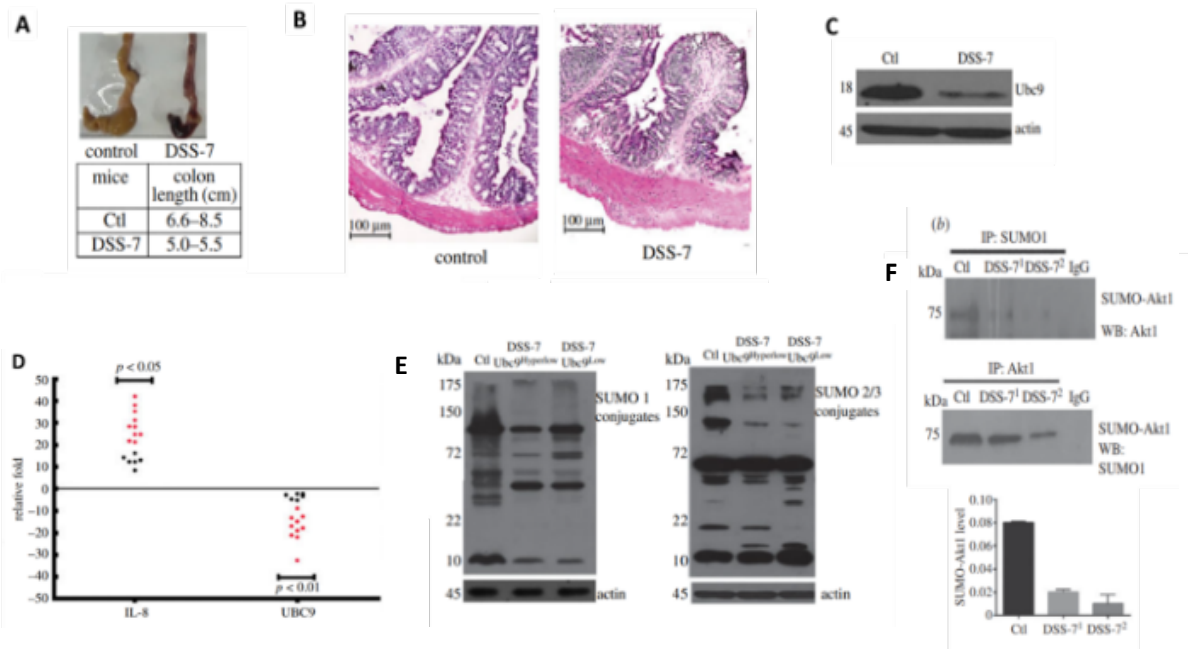


Figure 17. Modulation de la SUMOylation dans un modèle murin de colite induite par le DSS. (A) morphologie macroscopique du côlon de souris témoins ou traitées au DSS. **(B)** Inflammation exacerbée au niveau du côlon proximal chez des souris traitées au DSS (caractérisée par une perte des cryptes, un épaississement de la paroi colique et une érosion épithéliale). **(C)** Diminution de la quantité d'UBC9 dans des lysats épithéliaux de souris traitées au DSS. **(D)** Augmentation de l'expression de la cytokine inflammatoire IL-8 et diminution de l'expression d'UBC9 chez les souris traitées au DSS (chaque point noir représente une souris). **(E)** Diminution du niveau de protéines conjuguées à SUMO-1 ou SUMO 2/3 chez des souris traitées au DSS (les souris « Ubc9 low » et « Ubc9 hyperlow » sont définies en fonction du facteur de diminution d'expression d'Ubc9). **(F)** Diminution de la forme SUMOylée d'Akt1 chez les souris traitées au DSS (Adapté de Mustfa *et al.*, 2018).

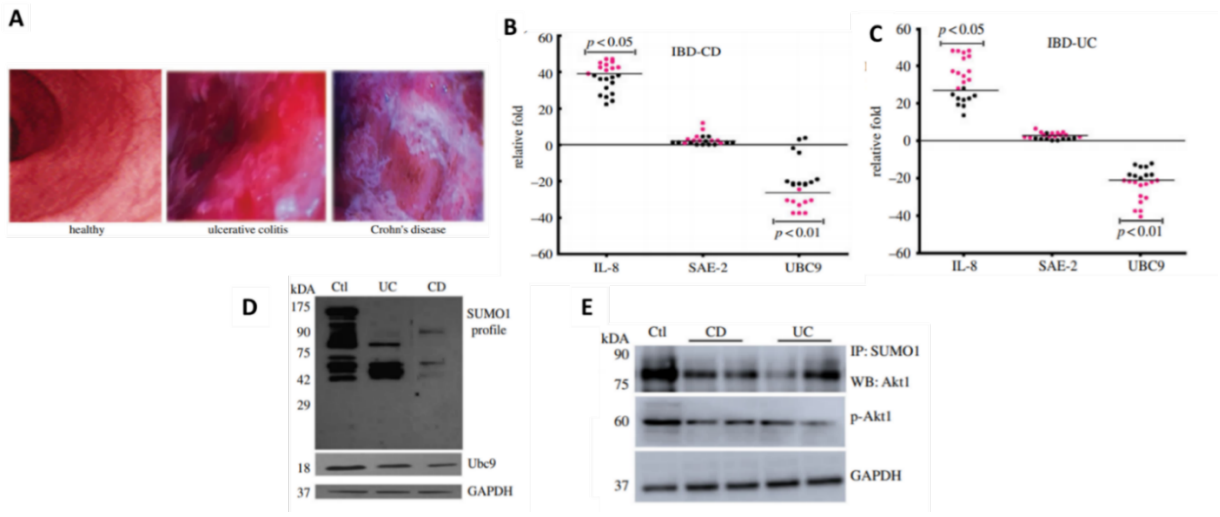


Figure 18. Diminution de la SUMOylation chez les patients atteints de MICI. (A). Images de coloscopie montrant le côlon de patients sains, atteints de RCH et de MC. **(B ; C)** Augmentation significative de l'expression de l'IL-8 dans des biopsies de côlon de patients atteints de MC **(B)** ou de RCH **(C)**. L'expression de SAE2 reste inchangée, tandis que l'expression d'UBC9 est fortement diminuée (entre 5 et 50 fois) chez les patients atteints de MICI. **(D)** Diminution significative de la SUMOylation (SUMO1) dans des tissus issus de biopsies coliques de patients atteints de MC ou de RCH**.** (E) Diminution de la forme SUMOylée d'Akt1 dans des biopsies coliques de patients atteints de MC ou de RCH (Adapté de Mustfa *et al.*, 2018).

L'altération de l'expression d'UBC9 était observée avant même l'apparition des symptômes de l'inflammation. Ceci suggère que cette diminution d'UBC9 pourrait participer au développement de l'inflammation (Mustfa *et al.*, 2017) **(Figure 17)**.

Le modèle DSS est un modèle expérimental très fréquemment utilisé pour étudier la colite et mimer chez l'animal une poussée inflammatoire homologue à celles retrouvées dans les MICI. Le DSS diminue l'intégrité de la barrière intestinale et favorise la translocation de composés bactériens. Ceci induit une réponse inflammatoire aigüe caractérisée par l'augmentation de divers cytokines inflammatoires (TGF-β, IL-6, IL-17, IL-1β) et une importante infiltration de cellules immunitaires (Kiesler *et al.*, 2015). Il a été montré que chez les souris DSS, l'indice de sévérité de l'inflammation (reflétant une diminution de la quantité de cellules caliciformes, ulcères, érosions épithéliales, infiltration de neutrophiles, etc.) est inversement corrélé à l'expression d'UBC9 (Mustfa *et al.*, 2017). Il a été proposé que la forte diminution d'UBC9, observée en réponse au DSS, induit une diminution de l'expression et de l'activité de régulateurs de la voie NF-κB, comme Akt1, qui sont impliqués dans les MICI (Arranz *et al.*, 2012).

Fait intéressant, la diminution d'Akt1 et de sa forme SUMOylée diminue l'expression de gènes inflammatoires, comme RelA, c-Fos et c-Jun chez les souris traitées au DSS, ainsi que dans des cellules épithéliales humaines en culture invalidées pour le gène UBC9 **(Figure 18)**.

Une diminution de la SUMOylation globale, corrélée à une forte diminution d'UBC9 a également été observée chez des patients atteints de MICI. L'indice de gravité de la maladie est notamment inversement corrélé à l'expression d'UBC9 ou à la SUMOylation d'Akt1 SUMOylée chez les patients atteints de MC ou de RCH **(Figure 18)**.

L'ensemble de ces données suggère qu'une altération de la machinerie de SUMOylation, en particulier de l'enzyme SUMO E2 UBC9, pourrait être impliquée dans le développement et la sévérité de l'inflammation dans les MICI (Mustfa *et al.*, 2017).

Suivant cette logique, la même équipe a ensuite développé un système de thérapie génique visant à augmenter la SUMOylation intestinale en augmentant l'expression de la SUMO E3 ligase PIAS1 (Yavvari *et al.*, 2019).

L'enzyme PIAS1 est notamment connue pour son rôle répresseur de l'activité STAT1 et de la voie NF-κB (Shuai et Liu, 2005 ; Liu *et al.*, 2005 ; Pascual *et al.*, 2005). La surexpression de PIAS1 induite par cette méthode de thérapie génique permet d'induire des changements

globaux dans le SUMOylome de l'hôte et d'atténuer considérablement l'inflammation intestinale au cours de colite induite par le DSS. Cette surexpression induit notamment une diminution significative de l'expression du facteur p65 de NF-κB et une diminution de la sécrétion de divers cytokines pro-inflammatoires comme le TNF-α, l'IL8, l'IFN-γ et l'IL-1β. Cette étude montre que la machinerie de SUMOylation, en particulier la ligase E3 PIAS1, pourrait constituer une cible thérapeutique intéressante pour le traitement de l'inflammation liée aux MICI (Yavvari *et al.*, 2019).

Pour compléter ces résultats, il a été montré que la déSUMOylase SENP7 était également un acteur potentiel de la physiopathologie des MICI. En effet, une diminution globale de la SUMOylation induite par une surexpression de SENP7 a été observée dans les cellules épithéliales intestinales de patients MICI et dans un modèle murin de colite induite par le DSS. Chez les patients atteints de MC ou de RCH, l'augmentation de SENP7 était fortement corrélée à l'indice de gravité de la maladie. En revanche, l'invalidation génétique de SENP7 dans un modèle de souris est marquée par une diminution de l'inflammation au cours d'une colite induite par le DSS (Suhail *et al.*, 2019).

Ensemble, ces études soulèvent l'importance de l'équilibre SUMOylation / déSUMOylation dans le contrôle de l'inflammation intestinale et l'intérêt potentiel de cibler la SUMOylation pour le traitement des MICI.

3. SUMO et bactéries entéropathogènes

Les agents pathogènes bactériens sont connus pour interférer avec de nombreuses modifications post-traductionnelles de la cellule hôte et notamment les modifications de type ubiquitine. Plusieurs études ont notamment montré qu'au cours de l'infection, certaines bactéries intestinales pathogènes altèrent fortement la SUMOylation des protéines des cellules intestinales *via* différents mécanismes.

- ***Listeria monocytogenes***

Les travaux de Ribet *et al.* 2010 étaient les premiers à mettre en évidence qu'un pathogène bactérien peut interférer avec la SUMOylation de cellules épithéliales intestinales (Ribet *et al.*, 2010).

En effet, l'infection des cellules épithéliales humaines par *Listeria monocytogenes,* l'agent pathogène responsable de la listériose, induit une dégradation spécifique d'UBC9.

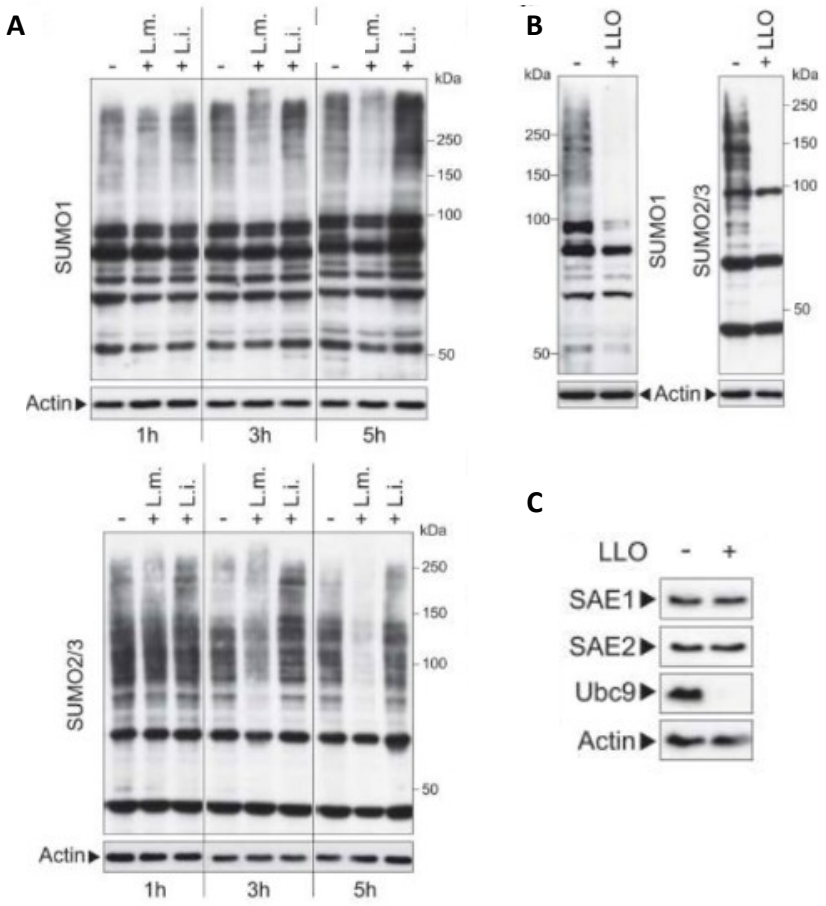


Figure 19. Diminution des protéines SUMOylées de l'hôte lors d'une infection par *Listeria monocytogenes*. **(A)** Diminution globale des protéines conjuguées à SUMO1 (panneau supérieur) ou SUMO2/3 (panneau inférieur) dans des cellules HeLa infectées par *Listeria monocytogenes* (**L.m.),** par comparaison à des cellules non infectées (-) ou incubées avec *Listeria innocua* (**L.i.**), une espèce de *Listeria* non pathogène. **(B)** Diminution de la SUMOylation globale des protéines de cellules incubées avec la LLO, une toxine sécrétée par *L. monocytogenes*. **(C)** Dégradation spécifique d'UBC9 induite par la toxine LLO (Adapté de Ribet *et al.*, 2010).

Comme UBC9 est la seule enzyme E2 codée par le génome humain, son inhibition bloque la SUMOylation dans les cellules infectées et conduit à une déSUMOylation globale des protéines de l'hôte. La dégradation d'UBC9 est induite par la formation de pores dans la membrane plasmique de l'hôte par la toxine bactérienne listériolysine O (LLO), qui joue un rôle fondamental dans la virulence bactérienne.

Une hyperSUMOylation induite par la surexpression de SUMO1 ou de SUMO2 dans des cellules épithéliales humaines provoque une diminution de l'efficacité d'infection par *L. monocytogenes* **(Figure 19)**. Ceci suggère que la modulation de la SUMOylation par *Listeria* altère l'activité de protéines clés de l'hôte, comme des facteurs de transcription, afin de favoriser la réplication ou la survie de la bactérie dans les cellules humaines (Impens *et al.*, 2014).

De façon intéressante, d'autres toxines bactériennes de la même famille que LLO et sécrétées par d'autres pathogènes extracellulaire induisent, tout comme LLO, la dégradation d'UBC9. Le ciblage de la machinerie de SUMOylation de l'hôte pourrait donc être une stratégie largement utilisée par différentes bactéries pathogènes (Ribet *et al.* 2010).

- ***Escherichia coli***

La toxine de la colibactine, produite par une souche pathogène d'*Escherichia coli* (*pks*$^{+}$ *E. coli*) associée au cancer colorectal (CCR), peut également moduler la SUMOylation des cellules intestinales de l'hôte. La bactérie *pks*$^{+}$ *E. coli* induit l'augmentation de l'expression du microARN miR 20a-5p, qui cible et diminue l'expression de la déSUMOylases SENP1 de l'hôte. L'inhibition de l'expression de SENP1 induit l'augmentation de la SUMOylation du facteur de transcription p53. Cela favorise l'émergence de cellules sénescentes sécrétant des facteurs de croissance favorisant la croissance tumorale et par conséquent la carcinogenèse colorectale (Dalmasso *et al.*, 2014).

Plus récemment, il été démontré que la SUMOylation des cellules épithéliales intestinales de l'hôte pouvait également être modulée en réponse à une infection par des *Escherichia coli* adhérentes invasives associées à la maladie de Crohn (AIEC) (Martin *et al.*, 2004 ; Dalmasso *et al.*, 2019). En effet, il a été démontré que les bactéries AIEC entrainaient une diminution de la SUMOylation globales des protéines des cellules épithéliales intestinales, et que cela favorisait leur réplication intracellulaire et, par conséquent, leur efficacité d'infection.

Cette diminution de la SUMOylation des protéines de l'hôte est provoquée par l'adhésion des bactéries AIEC sur les cellules intestinales *via* la protéine de surface FimH. Lors de leur adhésion, les AIEC induisent l'expression d'un miRNA (miR-18) qui cible et inhibe spécifiquement l'expression de la SUMO E3 ligase PIAS3 dans des cellules intestinales humaines en culture (Wu *et al.*, 2013 ; Dalmasso *et al.*, 2019). La déSUMOylation ainsi induite par les AIEC inhibe la réponse autophagique des cellules infectées, pouvant expliquer l'augmentation de la réplication intracellulaire des bactéries (Dalmasso *et al.*, 2019).

- ***Shigella flexneri***

L'inhibition de la machinerie de la SUMOylation a également été observée lors de l'infection par *Shigella flexneri*, l'agent pathogène responsable de la dysenterie bacillaire. A la différence de *Listeria*, les mécanismes utilisés ne reposent pas sur la sécrétion de toxines bactériennes.

Dans le cas de *Shigella flexneri,* Lapaquette *et al.* ont montré que l'infection était associée à un influx de calcium dans la cellule hôte. Ce flux calcique active les calpaïnes de l'hôte, qui sont des protéases qui vont cliver SAE2, l'un des deux composants de l'enzyme SUMO E1 (Lapaquette *et al.*, 2017).

L'inhibition de la SUMOylation qui en résulte favorise l'entrée de *Shigella* dans les cellules hôtes (Fritah *et al.*, 2014 ; Lapaquette *et al.*, 2017). Une autre étude indépendante a proposé que *S. flexneri* induisait une forte diminution des protéines conjuguées par SUMO1 et SUMO2 *via* la dégradation protéasome-dépendante de l'enzyme UBC9 (Sidik *et al.*, 2015). Comme dans le cas de *Listeria*, la surexpression de SUMO2 *in vitro* dans des cellules épithéliales intestinales diminue l'internalisation de *Shigella*.

D'autre part, des souris KO pour UBC9 sont plus sensibles à *Shigella* et présentent une augmentation de la perméabilité intestinale accompagnée d'une forte réponse inflammatoire. Ceci passe notamment par une diminution de la SUMOylation de facteurs transcriptionnels connus pour promouvoir la réponse inflammatoire tels que PPARγ et c-Fos (Fritah *et al.*, 2014).

Ces données soulignent l'importance de la SUMOylation dans la réponse antibactérienne de l'hôte contre l'infection par *Shigella* en diminuant deux étapes clés de la shigellose : l'invasion et la destruction inflammatoire de l'épithélium intestinal (Fritah *et al.*, 2014).

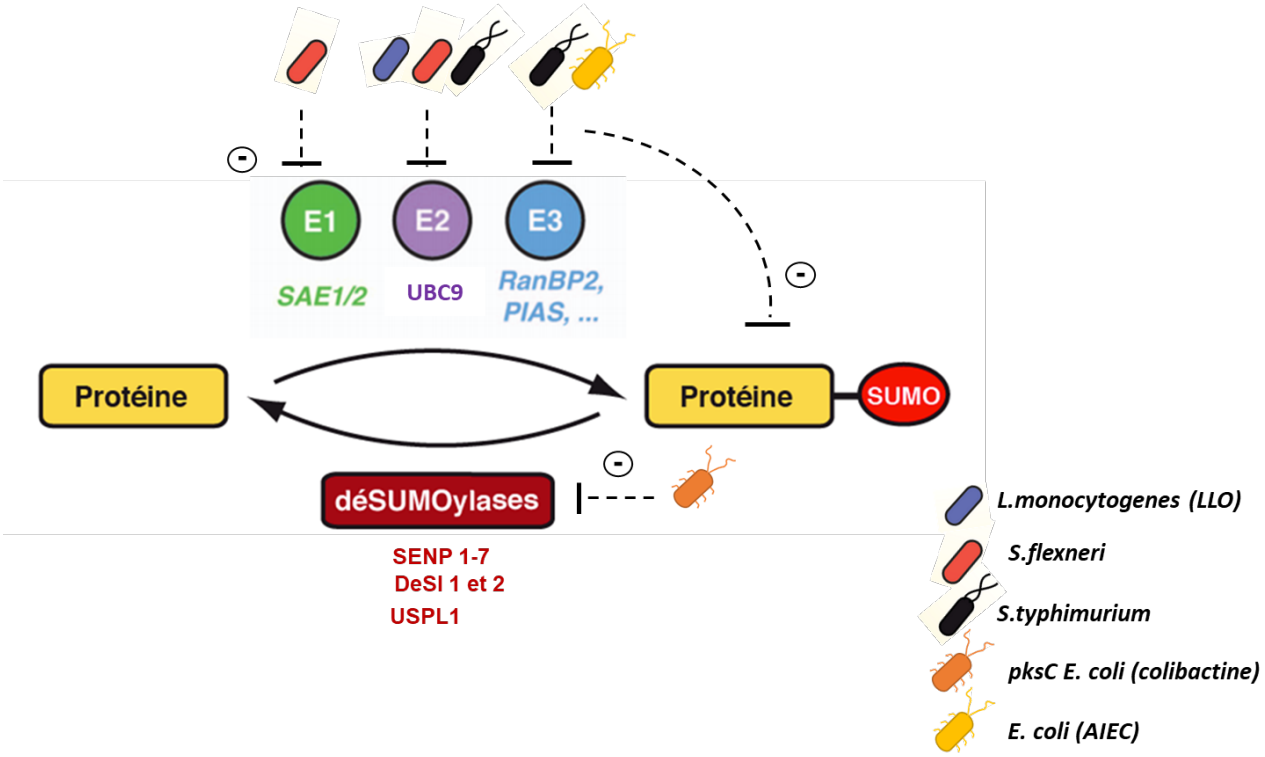


Figure 20. Stratégies utilisées par les bactéries pathogènes pour interférer avec la SUMOylation de la cellule hôte. Lors de l'infection, certaines bactéries pathogènes peuvent interférer avec la SUMOylation de la cellule hôte soit en inhibant la machinerie de conjugaison (E1, E2 et E3), soit en ciblant les déSUMOylases. *L. monocytogenes* induit la dégradation de l'enzyme de conjugaison **UBC9** *via* la sécrétion de la toxine LLO. *S. flexneri* et *S.* Typhimurium diminuent l'abondance des enzymes **SAE2, UBC9** et **PIAS1**. Les AIEC inhibent l'expression de la SUMO E3 ligase **PIAS3**. Les bactéries pks^{+} *E. coli* peuvent, elles, favoriser la SUMOylation de certaines protéines de l'hôte en interférant avec certaines déSUMOylases (Adapté de Ribet *et al.*, 2010).

- ***Salmonella* Typhimurium**

Dans le cas de l'infection par *Salmonella* Typhimurium, la diminution de la SUMOylation des protéines des cellules hôtes passe l'augmentation de l'expression de deux miARN (miR30c et miR30e) réprimant l'expression d'UBC9 (Verma *et al.*, 2015). La déSUMOylation induite par *S.* Typhimurium permet de favoriser sa réplication. La surexpression de SUMO1 conduit à la diminution du nombre de bactéries dans la cellule infectée.

Ces différentes études indiquent que dans le cas des bactéries entériques pathogènes, la diminution de la SUMOylation des protéines des cellules intestinales de l'hôte est cruciale pour la survie et la réplication bactérienne. Elle joue également un rôle important dans l'inflammation induite en réponse à l'infection au niveau de la muqueuse intestinale. Il est très intéressant de constater que plusieurs agents pathogènes ciblent les enzymes de la machinerie de SUMOylation, mais en utilisant des mécanismes distincts **(Figure 20)**. Ceci illustre probablement un exemple de convergence évolutive et souligne l'importance pour ces pathogènes d'interférer avec la SUMOylation de la cellule hôte pour assurer une infection efficace.

IV. Le microbiote intestinal

1. Définition et généralité

Le microbiote désigne l'ensemble des bactéries, virus, champignons et protozoaires commensaux, vivant dans un environnement spécifique et en symbiose avec leur hôte. Différents microbiotes existent au sein de l'organisme humain : le microbiote intestinal, le microbiote cutané, le microbiote des voies respiratoires et le microbiote vaginal chez la femme. (Marteau et Doré, 2017).

Le microbiote intestinal est le plus abondant. Il colonise tout le tractus gastro-intestinal humain. Sa densité est maximale au niveau du côlon.

Il se répartit entre la lumière du tube digestif et le mucus présent à la surface de l'épithélium intestinal. Le microbiote intestinal contient une très grande quantité de bactéries. On estime qu'il existe environ 10^{13} à 10^{14} bactéries au niveau intestinal, soit 1 à 10 fois le nombre de cellules qui composent le corps humain (Sender *et al.*, 2016).

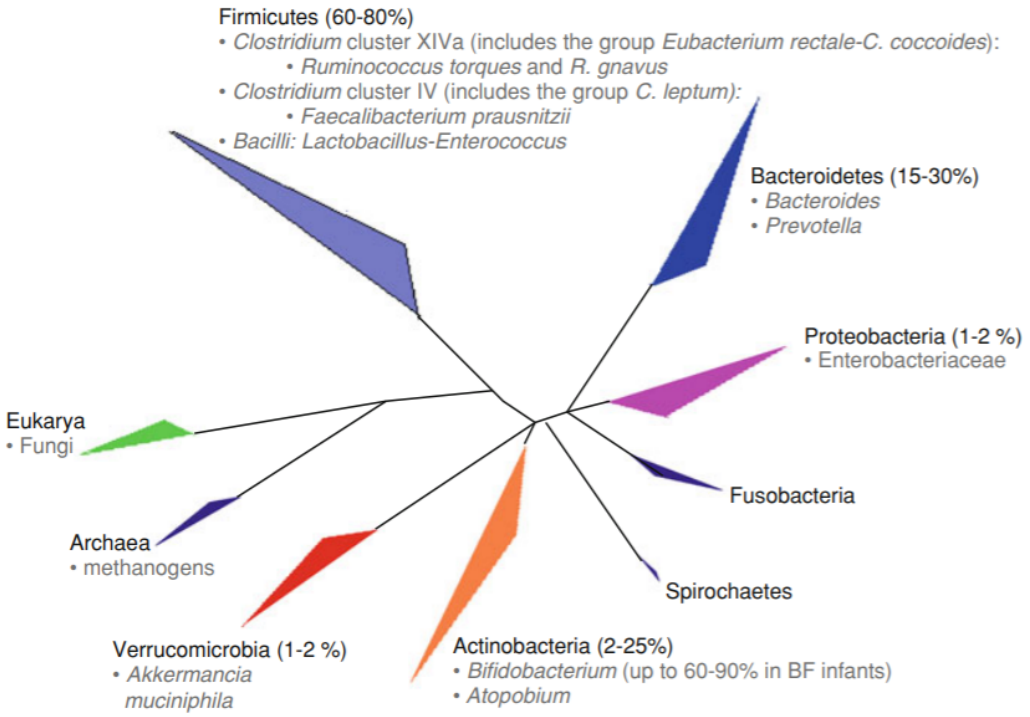


Figure 21. Arbre phylogénétique des bactéries résidant dans le côlon, montrant l'abondance relative des principaux phyla du microbiote intestinal chez l'Homme. La proportion totale de chaque phylum chez l'adulte en bonne santé est précisée entre parenthèses (Chang *et al.*, 2011).

La co-évolution entre l'hôte et son microbiote intestinal a abouti à une relation mutuellement bénéfique dans laquelle les bactéries intestinales apportent des contributions essentielles à la santé humaine. En effet, à l'état d'équilibre, ces bactéries jouent un rôle indispensable dans les fonctions digestives, métaboliques, immunitaires et physiologiques de l'hôte. Le rôle du microbiote intestinal dans l'homéostasie du corps humain fait qu'il est considéré comme un organe à part entière. En effet, ces dernières années, le microbiote intestinal est devenu l'objet de recherches biologiques et médicales approfondies et la connaissance des espèces résidentes et de leur capacité fonctionnelle ne fait qu'augmenter (Thursby et Juge, 2017). L'altération de la composition du microbiote intestinal et/ou de son activité métabolique (aussi appelé dysbiose), est un phénomène observé dans de nombreuses pathologies. Il existe à l'heure actuelle de très nombreuses études se focalisant sur le rôle potentiel du microbiote dans l'étiologie de ces pathologies (Cani, 2017).

2. Composition et diversité

Une grande partie des travaux à ce jour se sont concentrés sur les espèces (principalement bactériennes) composant le microbiote intestinal.

Les techniques actuelles d'identification de ces espèces, notamment le séquençage à haut débit des gènes codant les ARN ribosomiques 16S (ARNr 16S), ont permis de dresser le catalogue des bactéries présentes dans le microbiote intestinal et de comparer la composition du microbiote entre des individus sains et des patients atteints de pathologies variées. L'avantage de ces techniques est qu'elles ne nécessitent pas de cultiver les bactéries du microbiote pour les identifier (on estime que 60-80% des bactéries du microbiote intestinal sont non cultivables (Adak et Khan, 2019).

Aujourd'hui, nous savons qu'il existe 25 fois plus de gènes dans le microbiote intestinal que dans le génome humain et que ce microbiote est composé d'environ 1000 espèces bactériennes différentes, regroupées en 7 phyla principaux : les *Firmicutes*, les *Bacteroidetes*, les *Actinobacteria*, les *Proteobacteria*, les *Fusobacteria*, les *Verrucomicrobia* et les *Cyanobacteria*. Les *Firmicutes*, les *Bacteroidetes* et les *Actinobacteria* représentent à eux-seuls plus de 95% du microbiote intestinal chez l'Homme (Adak et Khan, 2019) **(Figure 21)**.

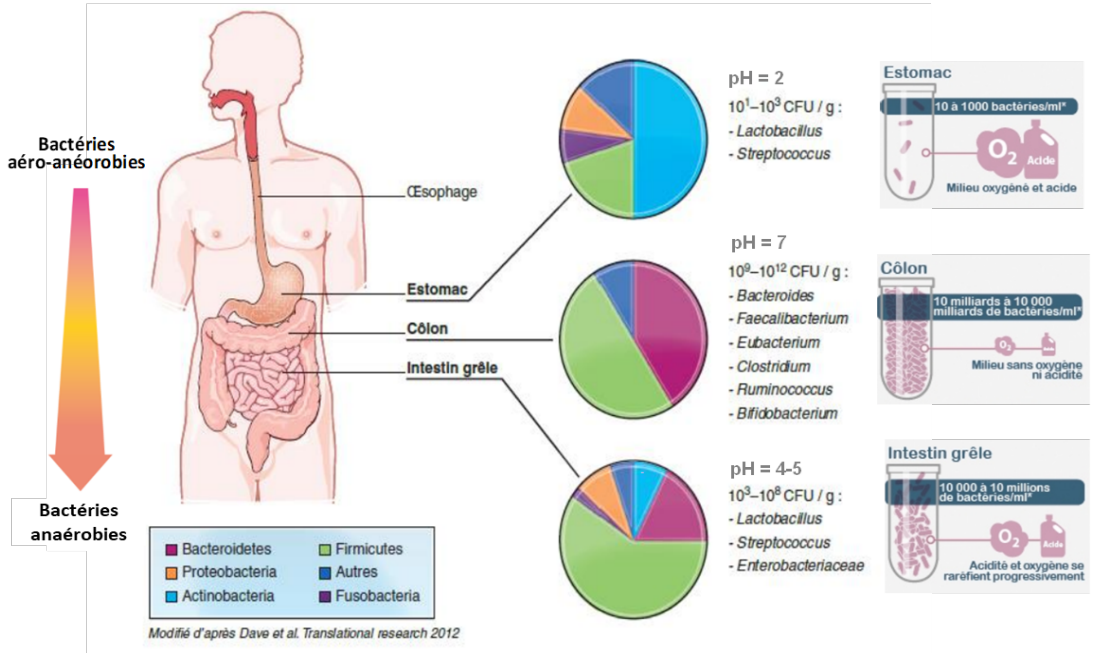


Figure 22. Composition du microbiote intestinal le long du tractus gastro-intestinal. (Adapté d'après Microbiote intestinal (flore intestinale) | Inserm - La science pour la santé ; http://le-ghost-de-nicolas.fr/les-grands-pouvoirs-des-bacteries/**)**

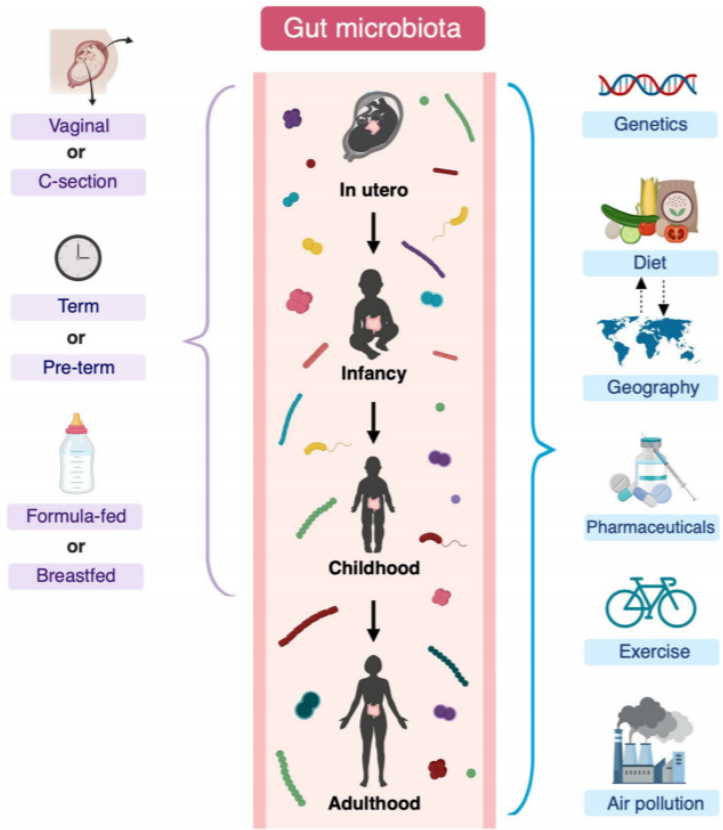


Figure 23. Facteurs influençant le développement et la composition du microbiote intestinal tout au long de la vie. (Rodriguez *et al.*, 2019).

Les phyla bactériens sont distribués de manière différentielle tout au long du tractus gastro-intestinal. En effet, la quantité et la diversité des bactéries augmentent le long du tractus digestif de l'estomac au côlon. Le côlon abrite la communauté bactérienne la plus dense (comprenant 10^{11}-10^{12} bactéries par gramme de matières fécales) mais aussi la plus métaboliquement active. Ces variations qualitatives et quantitatives semblent être dictées par certains facteurs biochimiques comme le pH et la disponibilité en oxygène (Patterson *et al.*, 2016). **(Figure 22)**

Il existe une grande variabilité interindividuelle de la composition du microbiote. Tout comme les empreintes digitales, le microbiote intestinal est propre à chaque individu. Il n'existe qu'une centaine d'espèces bactériennes partagées par tous, constituant le noyau phylogénétique du microbiote intestinal humain (Marteau et Doré, 2017).

3. Développement et évolution du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal se construit progressivement durant les deux premières années de la vie. Vers l'âge de 2 à 5 ans, il se stabilise de manière définitive et ressemble au microbiote d'un adulte en termes de composition et diversité. La composition de ce microbiote évoluera de nouveau au cours de vieillissement (Rodriguez *et al.*, 2015).

Les facteurs influençant la composition du microbiote intestinal dans les premières périodes de la vie sont les facteurs génétiques de l'hôte, l'âge gestationnel, le mode d'accouchement, le type d'allaitement, et les traitements médicamenteux, notamment la prise d'antibiotiques, qui a l'un des effets les plus significatifs sur l'écologie microbienne intestinale **(Figure 23)**.

Le profil du microbiote chez l'enfant semble en particulier dicté par les premières bactéries colonisatrices que le nouveau-né reçoit de sa mère pendant l'accouchement. En conséquence, le mode d'accouchement est un déterminant majeur de la composition du microbiote intestinale. Le microbiote des nourrissons nés par voies naturelles est initialement dominé par les bactéries du microbiote vaginal de la mère, notamment les genres *Bifidobacteria* et les *Lactobacillus*, tandis que celui des nourrissons nés par césarienne acquièrent des bactéries du microbiote cutanée, comme des *Staphylococcus* (Bäckhed *et al.*, 2015).

De manière générale, le microbiote intestinal des nouveau-nés est caractérisé par une faible diversité et une dominance relative de deux phyla, les *Actinobacteria* et les *Proteobacteria.* L'alimentation sera ensuite un déterminant majeur du développement de la composition du microbiote. En effet, les habitudes alimentaires peuvent affecter l'abondance de certains groupes bactériens colonisant l'intestin des nourrissons.

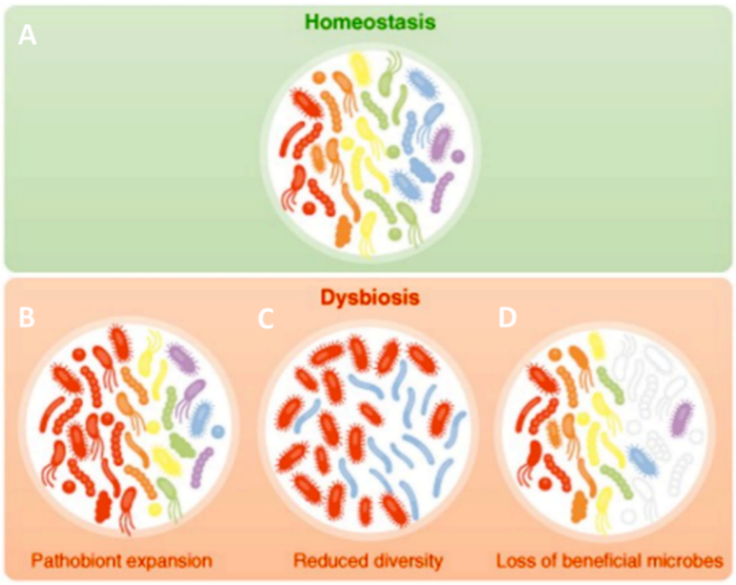


Figure 24. Illustration de la dysbiose intestinale. (A) microbiote diversifié chez un sujet sain ; **(B)** Prolifération de bactéries pathogènes ou de pathobiontes ; **(C)** Diminution ou perte de micro-organismes protecteurs/ bénéfiques ; **(D)** Diminution de la richesse/biodiversité (Adapté de Paterson et Round, 2014).

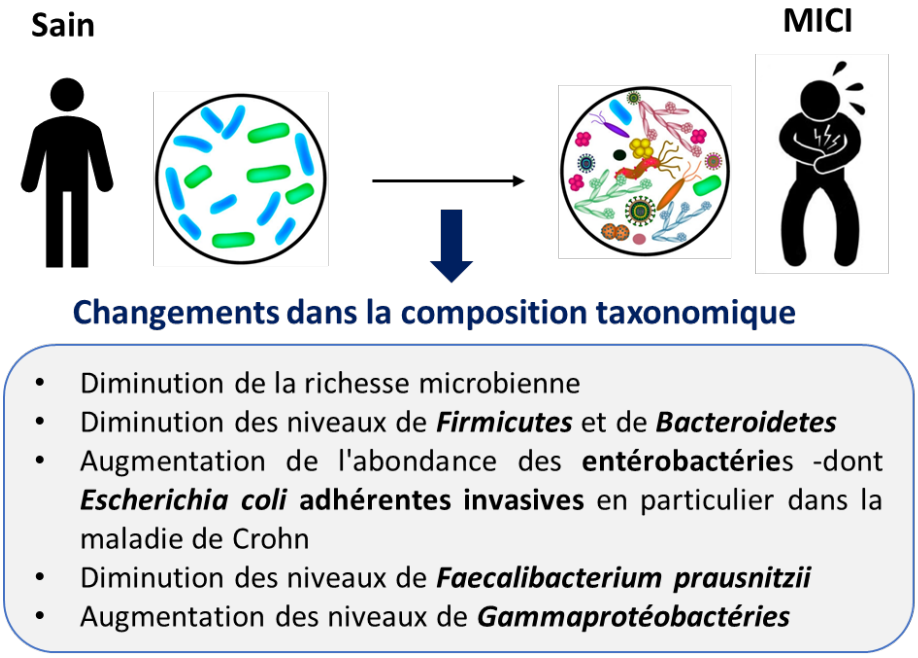


Figure 25. Dysbiose du microbiote intestinal observée au cours des MICI (Adapté de N Ananthakrishnan *et al.*, 2018).

Par exemple, le lait maternel favorise la prolifération du genre *Bifidobacteria* ainsi que plusieurs espèces de *Bacteroides.* En revanche, le microbiote des enfants nourris par du lait maternisé présente une plus grande abondance d'*E. coli* et de *Lactobacillus* (Bäckhed *et al.* 2015).

La diversité du microbiote intestinal augmente de façon importante après le sevrage et l'introduction d'aliments solides. Les deux phyla *Bacteroidetes* et *Firmicutes* deviennent alors les groupes bactériens les plus abondant du microbiote

Chez un individu sain, le microbiote intestinal possède une composition relativement stable. Ce microbiote est résilient : il peut revenir rapidement à son état d'équilibre après une perturbation. Cette résilience possède cependant une limite et une perturbation trop importante peut aboutir à un nouvel équilibre, différent de l'état initial et donc à un changement durable de la composition du microbiote, ce qu'on appelle dysbiose (Rodriguez *et al.*, 2015)

Cette dysbiose peut se caractériser par un excès de pathobiontes (micro-organismes potentiellement délétères), un manque de micro-organismes bénéfiques ou une réduction de la biodiversité (Marteau et Doré, 2017) **(Figure 24)**.

Divers facteurs extrinsèques peuvent perturber la composition du microbiote intestinal chez l'adulte tels que le stress, le mode de vie, le régime alimentaire, l'environnement, l'alcool, le tabac ou les traitement médicamenteux (notamment une antibiothérapie) (Thursby *et al.*, 2017) **(Figure 23)**. Ces perturbations peuvent en retour, affecter la physiologie de l'hôte et contribuer à la physiopathologie de plusieurs maladies tels que le syndrome métabolique, l'obésité ou le diabète de type 2 (Palau-Rodriguez *et al.*, 2015). Il a également été proposé que ces dysbioses puissent altérer la communication entre l'intestin et le système nerveux central (axe intestin-cerveau) et participer au développement de pathologies comme les troubles du comportement alimentaire (Breton *et al.*, 2019).

Pour de nombreuses pathologies, le lien de causalité entre dysbiose intestinale et développement de la maladie n'a pas été mis en évidence. Il existe donc encore un gros travail de recherche à effectuer pour démontrer le rôle de ces dysbioses intestinales dans l'apparition des symptômes de la maladie ou leur maintien (Cani, 2017).

Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin font partie des pathologies pour lesquelles le microbiote intestinal pourrait jouer un rôle important**.** Par exemple, une diminution importante de la biodiversité des *Firmicutes* a été observée chez des patients souffrant de MICI (Nishida *et al.*, 2018) **(Figure 25)**.

Une diminution de *Faecalibacterium prausnitzii*, une bactérie abondante du microbiote intestinal ayant des propriétés de type « anti-inflammatoires », a notamment été observée chez ces patients (Cao *et al.*, 2014).

La démonstration du rôle du microbiote dans le développement d'une pathologie est un point essentiel car il ouvre la voie à l'utilisation de stratégies thérapeutiques visant à restaurer l'équilibre du microbiote intestinal et à préserver la symbiose entre le microbiote et son hôte.

Les approches les plus courantes pour moduler la composition du microbiote impliquent l'administration de prébiotiques et/ou de probiotiques. Les prébiotiques sont des oligo- ou polysaccharides alimentaires indigestibles comme les galacto-oligosaccharides (GOS) et fructo-oligosaccharides (FOS) qui favorisent sélectivement la croissance et/ou l'activité de certaines bactéries bénéfiques déjà présentes dans le microbiote (Chen *et al.*, 2017).

Les probiotiques sont quant à eux des micro-organismes vivants (bactéries ou levures) qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités suffisantes, ont un effet bénéfique sur la physiologie de l'hôte. En pratique clinique, les probiotiques les plus utilisés sont certaines souches de *Bifidobacterium* ou de *Lactobacillus* et la levure *Saccharomyces boulardii*. Ces espèces sont disponibles sous forme de médicaments, dans des aliments ou des compléments alimentaires (Marteau et Doré, 2017).

Les probiotiques et les prébiotiques peuvent être associés au sein d'un seul produit, on parle de synbiotique dont l'objectif est de bénéficier de l'effet synergique de ces deux produits et particulièrement, de potentialiser les propriétés biologiques des probiotiques. On trouve également d'autres stratégies plus récentes comme les postbiotiques. Les postbiotiques correspondent aux métabolites sécrétés par les micro-organismes du microbiote, qui exercent des effets bénéfiques sur l'hôte de manière directe ou indirecte. Ils peuvent s'agir d'acides gras à chaînes courtes, d'acides organiques, de peptides, de protéines, de vitamines ou d'enzymes (Żółkiewicz *et al.*, 2020).

4. Les principaux rôles du microbiote intestinal

Les bactéries du microbiote communiquent de façon intense avec les cellules intestinales et, indirectement, avec tout l'organisme.

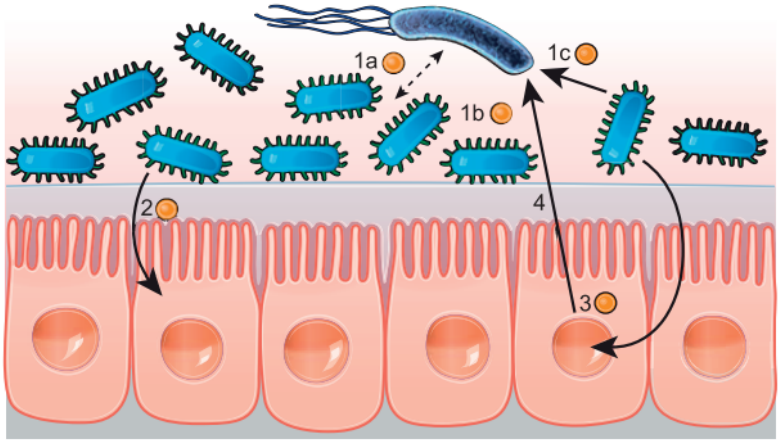


Figure 26. Effet « barrière » direct et indirect du microbiote intestinal. (a) Exclusion compétitive de pathogènes ; (b) Occupation des sites d'adhérence ; (c) Sécrétion de molécules antimicrobiennes comme les bactériocines. **2. Effet indirect** : (3) stimulation de la production de peptides antimicrobiens ; (4) augmentation de l'épaisseur de la couche de mucus (Marteau et Doré, 2017).

En effet, le microbiote intestinal agit comme un organe métabolique à part entière contribuant à l'homéostasie de l'hôte, tout en assurant diverses fonctions, principalement la digestion et l'extraction d'énergie des aliments, la maturation du système immunitaire ou encore la défense contre les pathogènes intestinaux.

4.1 Effet barrière et protection contre les agents pathogènes

Le microbiote intestinal constitue une barrière « microbiologique » contre les bactéries pathogènes en empêchant celles-ci de s'installer et de proliférer au niveau de l'épithélium intestinal.

Cet effet barrière implique plusieurs mécanismes dépendants directement ou indirectement du microbiote intestinal. L'effet direct du microbiote est lié principalement à la compétition entre le microbiote résidant et les pathogènes pour les nutriments disponibles et les sites d'adhérence (niches écologiques). Par ailleurs, certaines bactéries du microbiote sécrètent des bactériocines qui vont cibler et détruire d'autres espèces du microbiote (compétition inter-spécifique) mais également d'éventuels pathogènes. En parallèle des bactériocines, d'autres métabolites bactériens spécifiques, comme certains acides gras, inhibent la croissance d'espèces bactériennes pathogènes en diminuant localement le pH (Marteau et Doré, 2017). Les bactéries du microbiote peuvent également convertir les acides biliaires primaires en acides biliaires secondaires qui ont une activité inhibitrice sur certains pathogènes (Czepiel *et al.*, 2019).

En parallèle, les bactéries commensales sont capables de renforcer les barrières naturelles de l'organisme contre les pathogènes de façon indirecte.

En effet, les bactéries commensales sont capables de stimuler la production de peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales ou la sécrétion d'anticorps de classe IgA par les lymphocytes B de la muqueuse intestinale (Jandhyala *et al.*, 2015 ; Thursby et Juge, 2017) **(Figure 26)**. Certaines bactéries du microbiote peuvent également renforcer les jonctions serrées entre les cellules épithéliales, ce qui permet de maintenir l'intégrité de la barrière intestinale (Xu J *et al.*, 2019).

Enfin, le microbiote intestinal joue un rôle indispensable dans le développement et la maturation du système immunitaire inné et adaptatif de l'intestin.

Ce rôle essentiel a été mis en évidence par des études comparatives entre des souris axéniques (élevées en milieu stérile et donc dépourvues de microbiote) et des souris conventionnelles (élevées en milieu non stérile et donc possédant un microbiote). Les souris axéniques présentent une plus grande susceptibilité aux infections et de graves déficiences immunitaires marquées principalement par une diminution du nombre de lymphocytes intra-épithéliaux, une hypoplasie des plaques de Peyer, mais également une réduction de l'épaisseur du mucus et une diminution de la sécrétion d'anticorps IgA dans la lumière intestinale (Rooks et Garett, 2016).

Ces anomalies observées chez les souris axéniques ne se limitent pas à la muqueuse intestinale et sont également observées au niveau de la rate et des ganglions lymphatiques présentant des follicules lymphocytaires atrophiés.

De façon tout à fait intéressante, la simple recolonisation de ces souris par une ou quelques espèces bactériennes permet de restaurer la plupart de ces défauts immunitaires en quelques semaines (Mazmanian *et al.*, 2005).

Le microbiote intestinal permet donc de stimuler en permanence le système immunitaire de l'hôte et de le maintenir « en alerte ». Cependant, il est important de noter qu'il existe une tolérance du système immunitaire vis-à-vis des bactéries commensales du microbiote. Il est en effet indispensable que le système immunitaire distingue les bactéries pathogènes des bactéries commensales et qu'il n'induise pas de réponses immunitaires permanentes contre les bactéries du microbiote. En effet, ces réponses risqueraient d'entrainer des inflammations fortes et d'interférer avec les fonctions intestinales. Grâce à cette tolérance, le système immunitaire intestinal est capable de reconnaitre les antigènes propres au microbiote intestinal sans induire de réponses inflammatoires délétères (Rodriguez *et al.*, 2018)

Par conséquent, la stimulation permanente du système immunitaire par les bactéries du microbiote intestinal est indispensable non seulement pour son développement et sa maturation mais aussi pour le maintien de l'homéostasie intestinale, de la fonction de barrière de l'épithélium ou encore de l'équilibre entre réponses pro et anti-inflammatoires.

4.2 Rôle du microbiote dans l'homéostasie de la muqueuse intestinale

Le microbiote intestinal joue un rôle prépondérant dans le maintien de l'organisation structurelle de la muqueuse intestinale.

Le microbiote intestinal est en particulier impliqué dans la sécrétion de la couche de mucus recouvrant les cellules épithéliales du tractus digestif.

Chez les souris axéniques, le nombre de cellules caliciformes (sécrétant ce mucus) est plus faible (Paone et Cani, 2020). Les souris axéniques présentent d'autre part une surface intestinale réduite, une atrophie villositaire, une vascularisation de l'intestin plus faible ainsi que des activités enzymatiques digestives réduites par rapport à des souris conventionnelles (Gérard et Bernalier-Donadille, 2007). Le renouvellement de l'épithélium intestinal apparaît ralenti en absence de microbiote, avec une augmentation de la durée du cycle cellulaire et une diminution de la vitesse de génération de nouvelles cellules épithéliales au niveau des cryptes (Jandhyala *et al.*, 2015).

Le microbiote intestinal contribue également à l'angiogenèse intestinale. Ainsi, les réseaux de vaisseaux sanguins des villosités intestinales de souris axéniques sont beaucoup moins denses comparés aux souris conventionnelles. Cette diminution de la vascularisation peut nuire à la digestion et à l'absorption des nutriments (Jandhyala *et al.*, 2015). Fait intéressant, il a été démontré que certaines bactéries commensales comme *Bacteroides thetaiotaomicron* sont impliquées dans la restauration de l'angiogenèse intestinale ainsi que dans la maturation du système digestif (Stappenbeck *et al.*, 2002).

Enfin, la comparaison des profils d'expression génique de l'intestin grêle distal de souris axéniques et conventionnelles a montré que plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme énergétique cellulaire, le transport de nutriments (lipides, glucides...) ou encore la réponse aux hormones était modulée par le microbiote (Gérard et Bernalier-Donadille, 2007).

4.3 Fonctions métaboliques du microbiote

L'une des activités métaboliques majeure du microbiote intestinal est la synthèse de vitamines. Ces vitamines sont importantes pour la survie et la prolifération des bactéries, mais elles jouent également un rôle crucial dans le métabolisme et la physiologie de l'hôte, qui est incapable de les produire seul.

Les Mammifères sont par exemple dépendants du microbiote pour l'acquisition de la vitamine K, un cofacteur essentiel dans la synthèse de divers facteurs de coagulation. En effet, des rats axéniques non supplémentés en vitamine K montrent une faible activité de coagulation et développent par conséquent des hémorragies plus fréquemment que des rats conventionnels (Rowland *et al.*, 2018).

Les vitamines du groupe B sont également principalement produites par le microbiote : l'acide folique (vitamine B9), impliqué dans la synthèse et la réparation de l'ADN, ainsi que la cobalamine (vitamine B12) sont principalement produite par les *Bifidobacteria* (Degnan *et al.*, 2014).

La biotine (vitamine B8), la riboflavine (vitamine B2) et la thiamine (vitamine B1) sont produites par les *Bacteroidetes* (Rowland *et al.*, 2018).

Le microbiote intestinal est également indispensable au contrôle de l'homéostasie énergétique de l'hôte et en particulier dans le maintien du poids corporel. Des études comparatives entre la prise alimentaire des souris axéniques et conventionnelles ont démontré qu'en absence du microbiote, les souris nécessitaient jusqu'à 30 % d'apport calorique supplémentaire pour maintenir leur masse corporelle par rapport à des animaux conventionnels (Gérard et Bernalier-Donadille, 2007). Les souris axéniques développent également moins de graisse corporelle par rapport aux souris conventionnelles. La recolonisation de souris axéniques avec un microbiote intestinal standard aboutit à une augmentation de leur masse grasse, malgré une réduction de leur prise alimentaire de 30 % (Backhed *et al.*, 2004).

L'effet du microbiote sur le métabolisme énergétique de l'hôte et son poids corporel passe par des mécanismes très variés régulant la capacité de métabolisation des lipides et des glucides de l'alimentation (Patterson *et al.*, 2016) et le transport des lipides dans la circulation sanguine (Rabot *et al.*, 2010). Le microbiote joue d'autre part un rôle important dans la régulation du comportement alimentaire, *via* l'axe de communication microbiote-intestin-cerveau (Wang et Wang, 2019).

Une fonction métabolique majeure du microbiote intestinal est sa capacité à dégrader certains nutriments non digestibles par l'hôte. Au niveau colique, la dégradation de ces différents nutriments permet aux bactéries de récupérer l'énergie nécessaire à leur croissance et au maintien de leurs fonctions cellulaires. Les produits de ces dégradations peuvent d'autre part être libérés par les bactéries et utilisés par l'organisme hôte (Ramakrishna, 2013).

Les polysaccharides complexes issus des fibres alimentaires non digestibles font partie de ces nutriments utilisables uniquement par les bactéries du microbiote (principalement des membres des phyla *Bacteroidetes* et *Firmicutes*). En effet, les cellules humaines ne possèdent pas les enzymes nécessaires à leur dégradation.

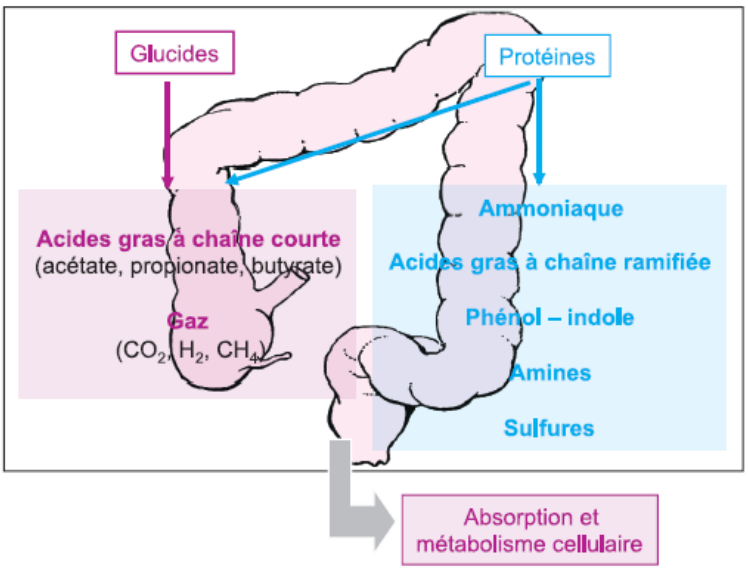


Figure 27. Principaux métabolites produits à partir de la fermentation des glucides et des protéines par le microbiote intestinal (Marteau et Doré, 2017).

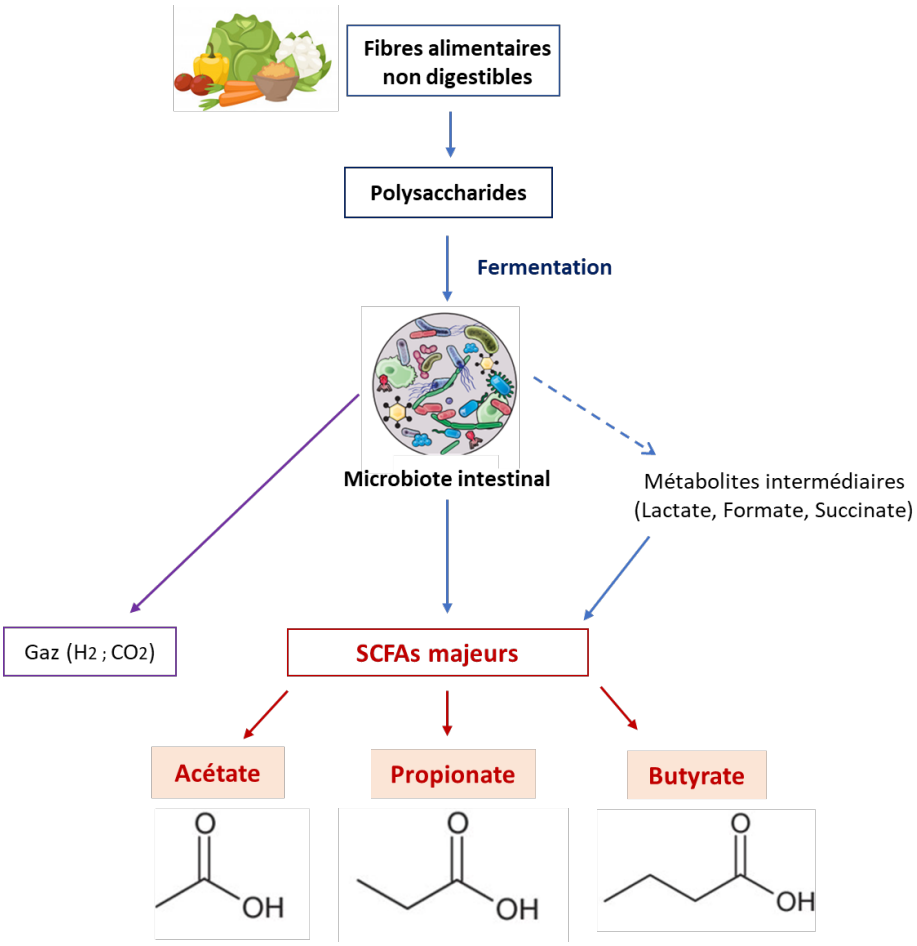


Figure 28. Fermentation des fibres non digestibles par le microbiote intestinal et production des principaux SCFA.

La fermentation de ces polysaccharides par les bactéries conduit principalement à la production d'**acides gras à chaînes courtes (SCFA : Short Chain Fatty Acids)** comme l'acétate, le butyrate et le propionate, et, en plus faibles quantités, d'autres acides organiques (lactate, formate et succinate) et des gaz (hydrogène, dioxyde de carbone et méthane) (Adak et Khan, 2019). En parallèle des SCFA, le microbiote intestinal produit également des **acides gras à chaînes ramifiées (BCFA : Branched Chain Fatty Acids)** notamment l'isobutyrate, l'isovalérate et le 2-méthylbutyrate, qui sont issus de la fermentation protéique (Portune *et al.*, 2016 ; Adak et Khan, 2019) **(Figure 27).**

5. Les SCFA

Les SCFA sont des acides gras volatils, possédant une chaîne de moins de six atomes de carbone. Ces SCFA comprennent l'acide formique, l'acide acétique, l'acide propionique, l'acide butyrique et l'acide valérique.

Les SCFA en solution existent soit sous forme acide (par exemple : CH3-CH2-CH2-COOH = acide butyrique), soit sous forme basique (par exemple : CH3-CH2-CH2-COO^- = butyrate). La forme acide est non chargée alors que la forme basique est chargée négativement. La capacité de ces deux formes à diffuser à travers la membrane plasmique des cellules intestinales sera donc différente (voir ci-dessous). Le pKa de ces couples acide/base étant compris entre 3 et 4, la forme majoritaire des SCFAs à pH neutre est la forme basique (Hamer *et al.*, 2007).

Les principaux SCFA produits au niveau intestinal sont l'acétate, le propionate et le butyrate. Ils constituent plus de 95% des SCFA identifiés au niveau du côlon chez l'homme. Leurs quantités respectives montrent généralement un rapport d'environ 3 : 1 : 1. Ainsi, l'acétate est le SCFA le plus abondant et représente plus de la moitié des SCFA du côlon (Ríos-Covián *et al.*, 2016) **(Figure 28)**.

La production des SCFA dépend principalement du régime alimentaire et de la composition du microbiote (Sun *et al.*, 2017). Dans ce contexte, la consommation d'un régime à forte teneur en protéines ou en graisse et d'un régime à faible teneur en fibres alimentaires aboutit à une réduction de la production des SCFA (Russel *et al.*, 2011).

L'acétate est produit par la plupart des espèces prédominantes du microbiote telles que les *Bacteroides*, les *Clostridium*, les *Bifidobacterium*, les *Ruminococcus* et les *Fusobacterium*. Le propionate est principalement synthétisé par les bactéries du phylum *Bacteroidetes,* en particulier par les espèces du genre *Bacteroides* (Ramakrishna, 2013).

Le butyrate quant à lui, est principalement produit par un petit nombre de bactéries intestinales du phylum des *Firmicutes*, comme *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium hallii*, *Roseburia* spp et *Ruminococcus bromii* (Gérard et Bernalier-Donadille, 2007).

Une fois produits, les SCFA peuvent être soit rapidement absorbés par les cellules épithéliales du côlon soit être détectés par des récepteurs membranaires spécifiques couplés aux protéines G (GPCR) appelés Free Fatty Acid Receptor (FFAR) (Sun *et al.*, 2017).

5.1 Diffusion des SCFA dans les cellules intestinales

Le mécanisme d'entrée des SCFA dans les cellules épithéliales du colon dépend de la « forme » des SFCA (forme acide, protonée et non chargée (R-COOH) ou forme basique, non protonée et chargée négativement ($R\text{-}COO^-$) (Gasaly *et al.*, 2021). A pH faible, la majorité des SCFA se trouve sous forme acide (non chargés et partiellement hydrophobes) et peut traverser la membrane plasmique des cellules épithéliales de l'intestin par diffusion passive (Stein *et al.*, 2000). A pH>6, les SCFA sont majoritairement sous forme basique (partiellement hydrophobes mais chargés négativement) et ne peuvent pas traverser les membranes plasmiques spontanément. Un transport facilité est donc indispensable (Tazoe *et al.*, 2008).

La diffusion facilitée des SCFA est assurée par 2 transporteurs membranaires : MCT1/Slc16a1 et SMCT1/Slc5a8. MCT1/SLC16a1 est un transporteur de faible affinité pour les SCFA couplé à l'export d'ions H^+. Il est principalement impliqué dans l'entrée de SCFA au niveau de l'épithélium colique dans le cas d'une alimentation standard caractérisée par des concentrations luminales de SCFA élevées. Slc5a8, est un transporteur de haute affinité, en particulier pour le butyrate, couplé à l'export d'ions Na^+.

Ce transporteur est essentiel dans le cas d'une alimentation pauvre en fibres, entrainant de faibles concentrations en SCFA. Les bactéries du microbiote et le butyrate luminal favorisent l'expression de MCT1 et de SMCT1 dans le côlon (Sun *et al.*, 2017 ; Sivaprakasam *et al.*, 2018).

Le pH du contenu luminal du tractus digestif peut varier de façon très importante en fonction du segment considéré. Le pH est voisin de 2 au niveau de l'estomac, puis il se neutralise progressivement pour atteindre 6,5 dans l'intestin grêle proximal et 7,5 dans l'intestin grêle distal. Il rediminue à 6,2 au niveau du colon droit (possiblement dû à la présence de SCFA) puis réaugmente à 6,8 au niveau du colon gauche/rectum (Nugent *et al.*, 2001).

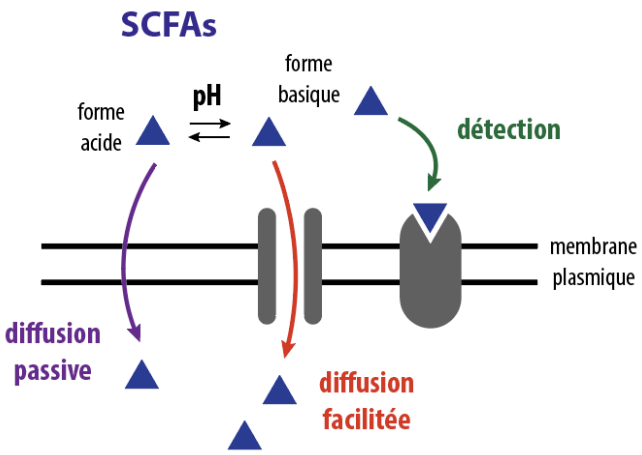


Figure 29. Détection et voies d'entrée des SCFA dans les cellules épithéliales intestinales.

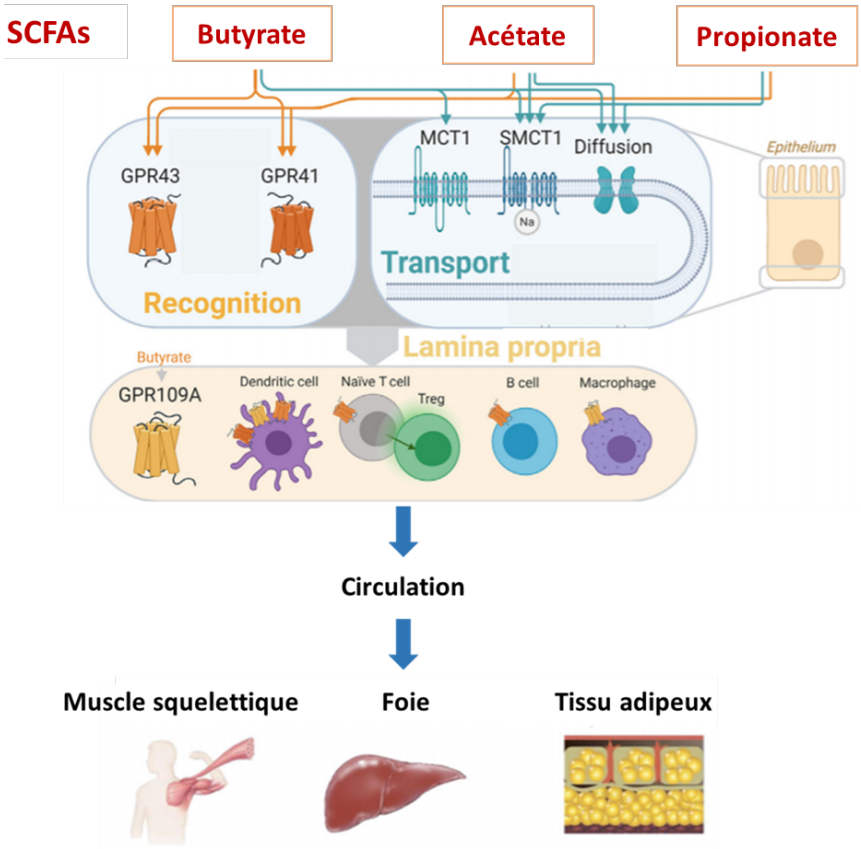


Figure 30. Absorption et transport des SCFA. Les SCFA peuvent pénétrer dans les entérocytes par diffusion passive ou par diffusion facilitée (*via* les transporteurs MCT1 et SMCT1). Une fois absorbés, les SCFA peuvent être transportés dans la circulation sanguine *via* différentes voies, et libérés dans les tissus périphériques cibles tels que le muscle squelettique, le foie et le tissu adipeux. Les SCFA peuvent aussi être détectés par les entérocytes et des cellules immunitaires spécifiques de la lamina propria et du tissu lymphoïde associé à la muqueuse intestinale *via* les récepteurs GPR41, GPR43 et GPR109a et induire différentes cascades de signalisation (Adapté de Van der Hee et M.Walls, 2021).

Bien que la forme majoritaire des SCFA dans l'intestin et le colon reste la forme basique, la proportion relative de forme acide peut atteindre 1-5% dans les segments intestinaux présentant un pH entre 6 et 6,5 (Hamer *et al.*, 2007).

Au niveau intestinal, les SCFA constituent une ressource énergétique importante et participent au maintien des fonctions de la barrière épithéliale.

Ces SCFA représenteraient 5 à 10% des besoins énergétiques humains (Royall *et al.*, 1990 ; Duncan *et al.*, 2007). Le butyrate est en particulier considéré comme la principale source d'énergie des colonocytes.

Les SCFA ayant pénétré dans les cellules intestinales peuvent ensuite atteindre la circulation sanguine pour être distribué dans différents organes périphériques. Fait intéressant, chacun des trois principaux SCFA semble agir de manière différente sur le métabolisme et la fonction de plusieurs tissus périphériques, y compris, le tissu adipeux, le foie et le muscle squelettique **(Figure 29)** (Sun *et al.*, 2017). Par exemple, les SCFA semblent réguler l'homéostasie hépatique des lipides et du glucose. L'acétate et le propionate sont métabolisés dans le foie, où ils servent de sources d'énergie (Thursby et Juge, 2017). L'acétate est le principal substrat de la lipogenèse hépatique, ainsi que de la biosynthèse du cholestérol, contribuant ainsi à des taux sériques élevés de cholestérol, tandis que le propionate semble être un inhibiteur efficace de ces deux processus (Yu *et al.*, 2019).

5.2 Voies de signalisation induites par les SCFA

Les SCFA peuvent réguler l'appétit et l'apport énergétique en agissant comme des molécules de signalisation**.**

Les récepteurs GPR41 (FFAR3), GPR43 (FFAR2) et GPR109a sont des récepteurs couplés aux protéines G spécifiquement activés par les SCFA. Fait intéressant, chaque SCFA semble avoir des degrés d'affinité différent pour ces récepteurs : le récepteur GPR41 est activé principalement par le propionate tandis que le récepteur GPR109a est spécifiquement activé par le butyrate. Le récepteur GPR43 est lui principalement activé par l'acétate et le propionate et à un niveau moins important par le butyrate. Ces récepteurs sont fortement exprimés au niveau de la muqueuse gastro-intestinale. Cependant, on les trouve également au niveau d'autres types cellulaires comme les cellules immunitaires ou les adipocytes (Priyadarshini *et al.*, 2018) **(Figure 30)**.

Au niveau colique, l'activation des récepteurs GPR43 et GPR41 présents sur les cellules L entéroendocrines par les SCFA stimule la sécrétion d'hormones clés du métabolisme comme le peptide YY (PYY) et le peptide GLP-1 (Glucagon-like Peptide 1) dans la circulation sanguine.

Le PYY ralentit le transit gastro-intestinal et donc améliore l'absorption des nutriments tandis que le GLP-1 est une hormone hypoglycémiante favorisant la sécrétion d'insuline (Lin *et al.*, 2012 ; Yu *et al.*, 2019).

Une signalisation accrue par les récepteurs GPR43 et GPR41 en réponse à une supplémentation en acétate, propionate et butyrate (ou un mélange des trois) semble prévenir la prise de poids, augmenter la satiété, améliorer la sensibilité à l'insuline et diminuer l'adipogenèse (Heimann *et al.*, 2016 ; Holmes *et al.*, 2020).

Il a d'autre part été montré que l'activation de GPR41 par les SCFA au niveau des adipocytes induit l'expression de la leptine, une hormone de la satiété (Zaibi *et al.*, 2010).

Les SCFAs contribuent également au renouvellement de l'épithélium intestinal. Le butyrate, par exemple, est impliqué dans le renforcement de l'intégrité de la barrière intestinale *via* l'augmentation de l'expression des protéines de jonctions serrées et la synthèse de la mucine (Ma *et al.*, 2012 ; Thursby et Juge, 2017).

5.3 SCFA et régulation de l'inflammation

Les SCFA jouent un rôle essentiel dans la régulation du système immunitaire et la réponse inflammatoire (Koh *et al.*, 2016). Ils semblent en particulier être des facteurs importants dans l'apparition ou le maintien des MICI (Silva *et al.*, 2018 ; Parada Venegas *et al.*, 2019 ; Lavelle et Sokol, 2020 ; Gasaly *et al.*, 2021).

L'importance des SCFA dans la régulation de l'inflammation intestinale peut être illustrée par l'effet de l'inactivation des récepteurs des SCFA dans divers modèles expérimentaux des MICI (Kim *et al.*, 2013). Il a été montré que des souris invalidées pour le récepteur GPR43 et le récepteur GPR109a présentaient une sensibilité accrue à la colite induite par le DSS (Maslowski *et al.*, 2009 ; Masui *et al.*, 2013 ; Singh *et al.*, 2014 ; Macia *et al.*, 2015). En revanche, l'administration d'un agoniste du GPR43 protège les souris conventionnelles contre l'inflammation (Agus *et al.*, 2016). De même, une augmentation de la production de SCFA induite par une supplémentation en fibres dans l'alimentation diminue l'inflammation dans un modèle de colite induite par le DSS ou le TNBS chez la souris (Macia *et al.*, 2015 ; Oppong *et al.*, 2015).

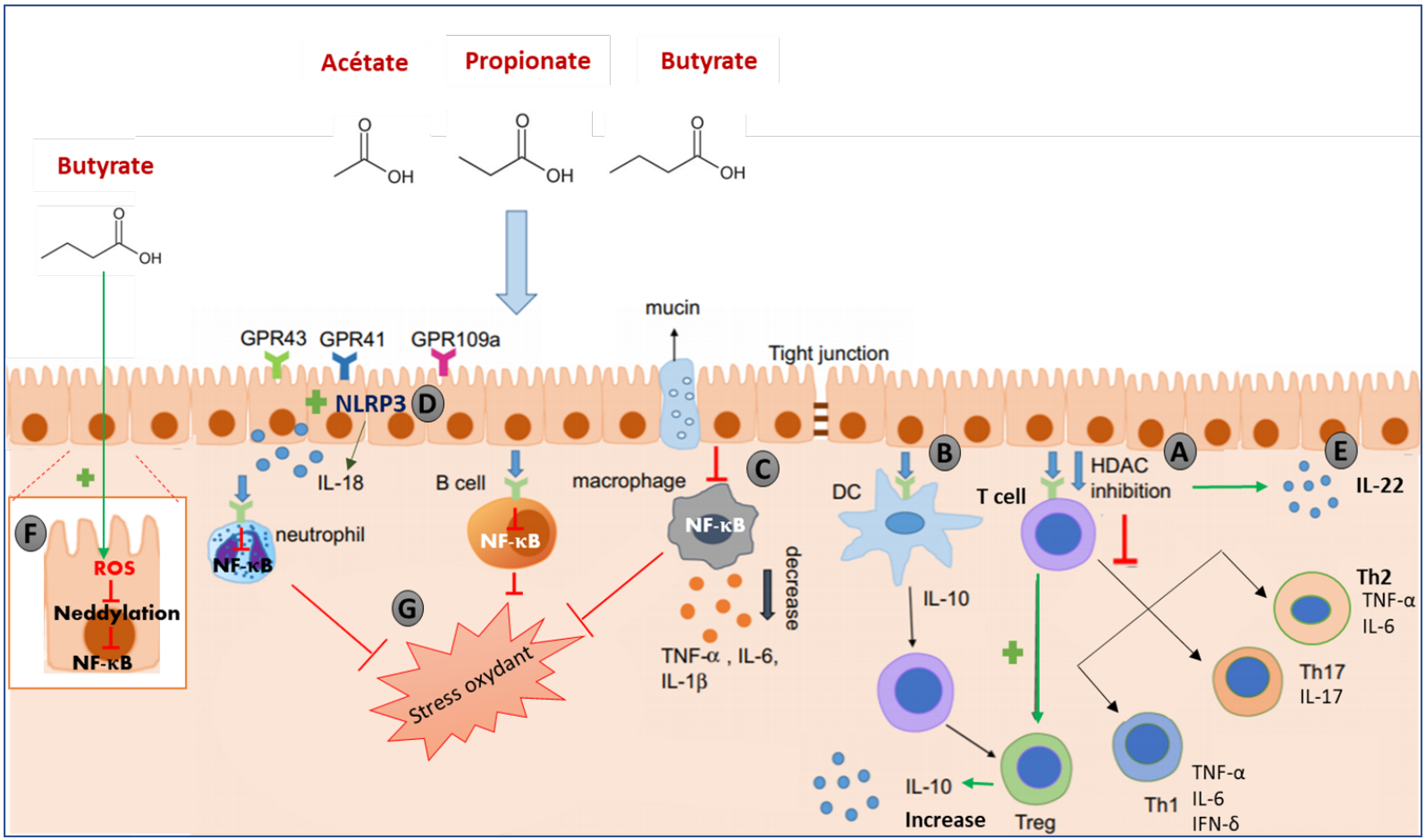


Figure 31. Mécanismes de régulation de l'inflammation par les SCFA. La différenciation des lymphocytes T CD4$^+$ en T_{reg} est régulée par les SCFA qui agissent soit directement sur les lymphocytes T **(A)** ou indirectement sur les cellules dendritiques (CD) **(B). (C)** Le butyrate agit également en inhibant la voie NF-κB dans les macrophages, ce qui bloque la sécrétion de cytokines inflammatoires. **(D)** Les SCFA régulent l'intégrité de la barrière intestinale en activant la voie de l'inflammasome (NLRP3) dans les colonocytes, ce qui aboutit à la sécrétion d'IL-18. **(E)** Les SCFA, et plus particulièrement le butyrate, induisent la sécrétion d'IL-22 par les lymphocytes T, une cytokine également impliquée dans le maintien de l'intégrité épithéliale. **(F)** Le butyrate inhibe la voie NF-κB dans les colonocytes en ciblant la Neddylation. **(G)** Les SCFA inhibent également la voie NF-κB dans les neutrophiles et les lymphocytes B, ce qui réduit en retour la production de ROS (Adapté de Sun *et al.*, 2017).

Chez l'homme, une diminution de l'expression du récepteur GPR43 a été observée chez les patients atteints de la maladie de Crohn (MC) en phase aiguë/active ou en phase de repos/rémission (Agus *et al.*, 2016). La fréquence et l'intensité des lésions inflammatoires observées dans la rectocolite hémorragique (RH) est d'autre part inversement proportionnelle à la concentration locale en SCFA (Cotran *et al.*, 1999).

De nombreuses études ont rapporté une diminution des concentrations fécales de SCFA et en particulier de la quantité des bactéries productrices de butyrate chez les patients atteints de MICI (Vernia, 1988 ; Takaishi *et al.*, 2008 ; Huda-Faujan *et al.*, 2010 ; Machiels *et al.*, 2014 ; DeGruttola *et al.*, 2016).

Cette diminution de SCFA est corrélée à l'« activité » de la maladie. En particulier, les patients en rémission présentent des taux de butyrate plus élevés que les patients en phase « active » sévère (Kumari *et al.*, 2013).

L'abondance de *Faecalibacterium prausnitzii*, l'une des principales bactéries commensales productrices de butyrate, est inversement corrélée à la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires au niveau intestinal. La perte de *F. prausnitzii* est un facteur prédictif de la récidive de la MC (Marteau et Doré, 2017). Il a été montré que *F. prausnitzii* réduit la sévérité de l'inflammation chronique, aiguë, à bas grade ou encore l'inflammation induite par le DSS dans des modèles murins (Sokol *et al.*, 2008 ; Martín *et al.*, 2014 ; Martín *et al.*, 2015 ; Lopez-Siles *et al.*, 2017).

Les effets « anti-inflammatoire » des SCFA sont principalement médiés par l'inhibition de cibles intracellulaires, notamment les histones désacétylases (HDAC), ou par l'activation des récepteurs GPR41, GPR43 et GPR109a (Bhutia *et al.*,2015) **(Figure 31)**.
Ces métabolites agissent sur de nombreux types cellulaires comme les colonocytes, les cellules dendritiques (DC), les macrophages et les lymphocytes T (Gasaly *et al.*, 2021).

- ***Effet des SCFA sur la différenciation des lymphocytes T CD4$^+$***

Les SCFA, principalement le butyrate et le propionate, peuvent induire la différenciation des cellules T CD4$^+$ naïves en cellules T régulatrices T_{reg} FOXP3$^+$ sécrétrices de cytokine anti-inflammatoires, comme l'IL-10 (Smith *et al.*, 2013 ; Furusawa *et al.*, 2013 ; Beek *et al.*, 2017).

Ces lymphocytes T_{reg} $Foxp3^+$ jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie immunitaire et dans l'inhibition de l'inflammation intestinale. Cette sous-population lymphocytaire est diminuée chez les patients atteints de MICI (Khalili *et al.*, 2018). De façon logique, des souris invalidées pour GPR109a présentent une sensibilité accrue à la colite, associée à une inhibition de la différenciation des cellules T naïves en T_{reg} et à une diminution des taux d'IL-10 dans le côlon (Singh *et al.*,2014).

De même, l'administration d'acétate diminue l'inflammation en augmentant l'expression d'IL-10 dans un modèle de colite au DSS chez des souris sauvages mais pas chez des souris invalidées pour le récepteur GPR43 (Masui *et al.*, 2013).

- ***Effet des SCFA sur l'inflammasome***

L'activation des récepteurs GPR43 et GRP109A par les SCFA (acétate et butyrate) permet également de maintenir l'intégrité de l'épithélium intestinal *via* l'activation de l'inflammasome (Singh *et al.*, 2014 ; Macia *et al.*, 2015). Des souris invalidées pour NLRP3, un constituant essentiel de l'inflammasome, présentent une colite exacerbée en réponse au DSS (Zaki *et al.*, 2010 ; Macia *et al.*, 2015). L'activation de l'inflammasome permet la sécrétion d'IL-18, une interleukine impliquée dans le maintien de l'intégrité de l'épithélium intestinal et qui contribue à l'homéostasie intestinale et à la protection contre la colite (Nowarski *et al.*, 2015 ; Shao *et al.*, 2015).

- ***Effet des SCFA sur la voie NF-κB***

Un autre mécanisme proposé pour expliquer l'effet « anti-inflammatoire » des SCFA est que ces derniers modulent la voie de signalisation NF-κB (Rooks *et al.*, 2016 ; Prada Venegas *et al.*, 2019). En effet, le blocage de cette voie par les SCFAs dans des cellules épithéliales intestinales humaines comme les T84, les HT-29 ou les Caco-2 permet de diminuer la production de cytokines pro-inflammatoires (Tedelind *et al.*, 2007 ; Asarat *et al.*, 2015 ; Prada Venegas *et al.*, 2019). Par exemple, un prétraitement de cellules Caco-2 avec du butyrate, du propionate ou de l'acétate bloque la sécrétion d'IL-8 et d'IL-6 en réponse au TNFα (Hang *et al.*, 2018). Il est important de noter que l'IL-8 est surexprimée par les cellules intestinales des patients atteints de rectocolite hémorragique ou de maladie de Crohn (Kötken *et al.*, 2016).

Une étude clinique a montré que le traitement de biopsies coliques de patients atteints de MC avec du butyrate diminuait l'expression du TNFα en bloquant la voie NF-κB (Segain *et al.*, 2000).

Les SCFA, et en particulier le butyrate, peuvent inhiber la voie NF-κB en ciblant une modification de type ubiquitine nommée Neddylation (Kumar *et al.*, 2007). Une des étapes essentielles de la voie NF-κB est la dégradation de la protéine IκB-α par le protéasome.

Cette dégradation fait suite à l'ubiquitination d'IκBα par un complexe ubiquitine ligase appelé E3-SCF$^{\beta TrCP}$.

L'activité de cette ubiquitine ligase est régulée par la Neddylation, qui correspond à la conjugaison du polypeptide NEDD8 sur la sous-unité Cullin-1 (Cul-1) de ce complexe (Parry *et al.*, 2004).

Le blocage de la Neddylation de Cul-1 entraîne une inactivation du complexe ubiquitine ligase E3-SCF$^{\beta TrCP}$ et donc bloque la dégradation d'IκBα et l'activation de la voie NF-κB. De façon tout à fait intéressante, Kumar *et al.*, ont montré que le butyrate pouvait induire la perte de neddylation de Cul-1 en inactivant l'enzyme impliquée dans la conjugaison de NEDD8. Cette inactivation repose sur l'induction d'un stress oxydant dans les cellules intestinales et la génération transitoire d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), entrainant une inactivation par oxydation du résidu cystéine catalytique de l'enzyme de conjugaison NEDD8 UBC12 (Kumar *et al.*, 2009).

- ***Effet des SCFA dans le traitement des MICI***

L'ensemble de ces données suggèrent que les SCFA pourrait être utilisés pour traiter l'inflammation incontrôlée observée durant les phases actives des MICI.

De nombreuses études ont évalué l'effet de l'administration du butyrate ou d'autres SCFA (acétate et propionate) chez les patients atteints de MICI (Thibault *et al.*, 2007 ; Silva *et al.*, 2018). Bien que certaines études aient rapporté des effets bénéfiques des SCFA (Scheppach *et al.*, 1992 ; Vernia *et al.*, 1995 ; Lührs et al 2002 ; Vernia *et al.*, 2003 ; Hallert *et al.*, 2003 ; Di Sabatino *et al.*, 2005), d'autres ont décrit des résultats contradictoires (Breuer *et al.*, 1997 ; Hamer *et al.*, 2008 ; Hamer *et al.*, 2010 ; Tominaga *et al.*, 2018 ; Kaczmarek *et al.*, 2020).

Par exemple, l'administration orale de butyrate a permis de réduire l'inflammation intestinale chez des patients atteints de la maladie de Crohn (Di Sabatino *et al.*, 2005).

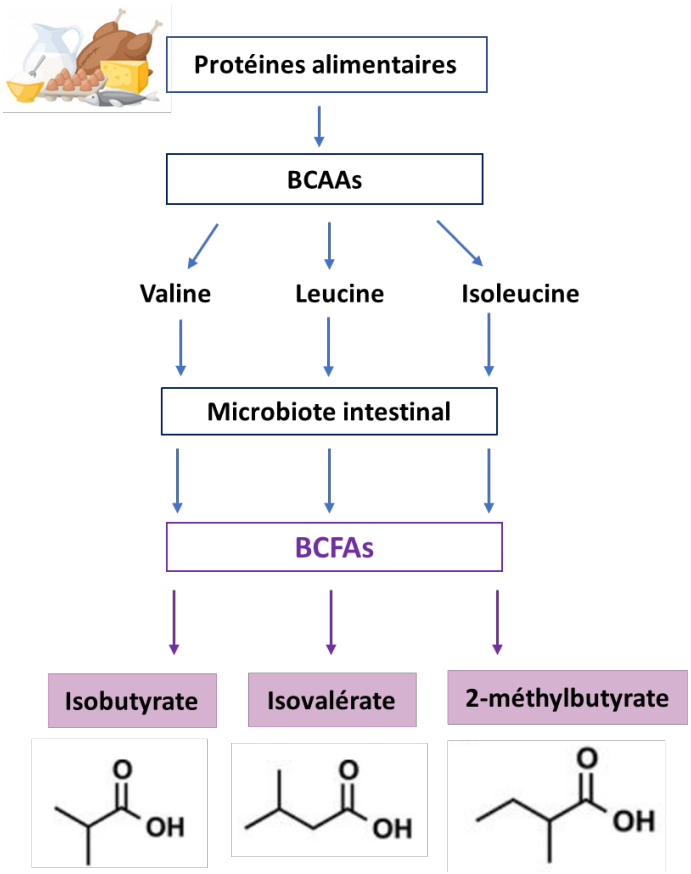


Figure 32. Fermentation des acides aminés ramifiés en BCFA par le microbiote intestinal. BCAA: Branched Chain Amino Acids; BCFA: Branched Chain Fatty Acids.

L'administration de comprimés de butyrate a également amélioré les aspects histologique et endoscopiques chez les patients atteints de RCH (Vernia *et al.*, 2000).

Chez les patients atteints de RCH, des lavements au butyrate permettent de diminuer l'indice d'activité de la maladie en inhibant l'activation de la voie NF-kB dans la muqueuse colique (Lührs *et al.*, 2002). Enfin, le traitement des patients atteints de RCH avec des lavements contenant un mélange de SCFA (acétate, propionate et butyrate) augmente le taux de rémission chez ces patients (Patz *et al.*, 1996).

L'utilisation de lavements contenant un mélange de SCFA en complément d'autres molécules comme l'acide 5-aminosalicylique ou la corticothérapie chez des patients RCH a également permis d'augmenter le taux de succès de ces traitements (Vernia *et al.*, 2003).

A l'inverse, certaines études n'ont décrit aucune efficacité pour des traitements avec SCFA chez les patients atteints de MICI (Scheppach *et al.*, 1996 ; Breuer *et al.*, 1997 ; Hamer *et al.*, 2008 ; Hamer *et al.*, 2010 ; Tominaga *et al.*, 2018 ; Kaczmarek *et al.*, 2020). L'étude de Hamer *et al.* n'a indiqué aucun bénéfice des lavements de butyrate chez des patients atteints de RCH en rémission (Hamer *et al.*, 2010), tandis que des lavements contenant un mélange de SCFA n'ont abouti à une rémission clinique que dans un petit nombre de patients (Breuer *et al.*, 1997).

Certains facteurs peuvent expliquer les résultats contradictoires de ces études cliniques sur les effets des SCFA. La plupart des études implique des groupes de patients relativement restreints (Kaczmarek *et al.*, 2020). Il existe également de nombreuses variations entre les études : par exemple, les patients diffèrent par leur origine ethnique, leur âge, leur sexe. La sévérité de la maladie pourrait bien sûr également jouer un rôle dans l'efficacité des SCFA (Kaczmarek *et al.*, 2020).

L'utilisation des SCFA dans le traitement des MICI reste donc potentiellement intéressante mais leur mode d'administration, les doses utilisées et les contextes pathologiques précis dans lesquels ils présentent un réel intérêt restent à définir précisément.

6. Les BCFA

Les BCFA sont une classe d'acides gras possédant un ou plusieurs groupements « méthyl » sur leur chaîne carbonée**.** Les trois BCFA les plus abondants dans l'intestin sont l'isobutyrate, l'isovalérate et le 2-méthylbutyrate. Ils sont produits à partir de la fermentation d'acides aminés branchés (BCAA) comme la valine, l'isoleucine et la leucine par les bactéries du microbiote intestinal **(Figure 32)**.

Le rôle biologique des BCFA a été beaucoup moins étudié que celui des SCFA (Cummings *et al.*, 1987). Les bactéries intestinales productrices de BCFA sont en particulier peu caractérisées (Rios-Covian *et al.*, 2016). Elles regroupent des bactéries possédant une grande diversité de protéases principalement des genres *Bacteroides* et *Clostridium (*Rios-Covian *et al.*, 2020). Plus récemment, la bactérie *Clostridium sporogenes* a été identifiée comme productrice majeure d'isobutyrate, d'isovalérate et de 2-méthylbutyrate (Dodd *et al.*, 2017).

La concentration locale de BCFA augmente progressivement du côlon proximal vers le côlon distal (Macfarlane and Cummings, 1991 ; Macfarlane *et al.*, 1992).

La production de ces métabolites semble dépendre de la source d'énergie disponible ainsi que du pH du milieu. Une étude *in vitro* a montré que les bactéries protéolytiques du microbiote intestinal produisaient des BCFA lorsqu'elles étaient cultivées avec des peptides comme principale source de carbone à un pH de 6,8, alors que l'ajout de glucides à pH 5,5 à ces cultures réduisait la formation de BCFA (Smith et Macfarlane, 1998). Un régime alimentaire riche en protéines va, lui, favoriser un basculement de la fermentation glucidique vers la fermentation des protéines par les bactéries intestinales, aboutissant à une augmentation de la concentration en BCFA (Pieper *et al.*, 2012 ; Aguirre *et al.*, 2016 ; Hald *et al.*, 2016). De la même façon, des compléments alimentaires composés de glucides complexes provoquent une diminution des taux fécaux de BCFA (François *et al.*, 2014) alors que la supplémentation protéique induit une production plus élevée de ces métabolites par le microbiote intestinal (Russell *et al.*, 2011). La production de BCFA dans la lumière intestinale est donc dépendante du régime alimentaire (en particulier de la disponibilité en acides aminés branchés), mais aussi, bien sûr, des préférences métaboliques des espèces bactériennes présentes.

L'âge est également un facteur majeur affectant la synthèse des BCFA chez l'homme. En effet, la quantité de BCFA semble être corrélée positivement avec l'âge. Il a été montré notamment que le rapport SCFA / BCFA était diminué de manière significative chez des personnes âgées de 66 à 95 ans par rapport à des nouveau-nés (Rios-Covian *et al.*, 2020).

A ce jour, on en sait très peu sur le devenir et le métabolisme des BCFA chez l'homme en particulier au niveau des cellules épithéliales intestinales. Tout comme les SCFA, ces métabolites peuvent exister sous forme acide (non chargée) ou basique (chargée négativement) (Chu and Montrose, 1995). Leur diffusion dans les cellules intestinales se fera donc soit de façon passive, soit de façon facilitée par des transporteurs.

La spécificité des transporteurs prenant en charge les BCFA reste mal caractérisée (en particulier leur capacité à « distinguer » les BCFA des SCFA).

Les colonocytes semble avoir la capacité de métaboliser l'isobutyrate (plus que les entérocytes).

Le butyrate peut, lui, inhiber de manière compétitive le catabolisme de l'isobutyrate dans ces cellules, ce qui suggère que l'isobutyrate puisse servir de source d'énergie alternative dans les colonocytes dans le cas d'une faible disponibilité du butyrate (Jaskiewicz *et al.*, 1996).

Les BCFA ont été identifiés comme étant des ligands potentiels des récepteurs GPR41 et GPR43. L'isobutyrate et l'isovalérate se fixent préférentiellement sur le récepteur GPR41 (Le poul *et al.*, 2003 ; Schmidt *et al.*, 2011).

L'isobutyrate semble posséder une affinité plus importante pour ces deux récepteurs que l'isovalérate (Le poul *et al.*, 2003). Les effets médiés par l'activation de ces récepteurs par les BCFA dans la physiologie de l'hôte restent mal caractérisés (Krautkramer *et al.*, 2021). Fait intéressant, l'isovalérate s'est récemment révélé être un ligand d'Olfr558, un récepteur exprimé par les cellules entérochromaffines qui contrôlent la sécrétion de sérotonine (un neurotransmetteur impliqué dans la régulation du comportement, de la perception de la douleur et de l'anxiété) (Bellono *et al.*, 2017). Par ailleurs, certaines études indiquent que les MICI pourraient être (en partie) liés à une modification de la signalisation sérotoninergique des cellule entérochromaffine (Meijerink, 2021). Ces données pourraient suggérer un rôle potentiel de l'isovalérate médié par l'activation du récepteur Olfr558 dans la régulation de l'axe microbiote-intestin-cerveau au cours des MICI.

Les BCFAs pourraient jouer un rôle dans les mouvements ioniques à travers l'épithélium intestinal. Zaharia *et al.* (2001) ont démontré que l'isobutyrate stimule l'absorption colique de Na^+ dans un modèle *in vitro* de colonocytes. En outre, Diener *et al.* (1993) ont montré que l'incubation de cryptes coliques avec de l'isobutyrate active un échangeur Na^+/ H^+ (NHE3) situé sur la membrane apicale des entérocytes, facilitant ainsi l'absorption de NaCl. Fait intéressant, une étude récente a montré qu'une réduction d'activité de NHE3 chez l'homme induit le développement de diarrhées. De même, la déplétion de NH3 chez la souris induit des diarrhées et entraine un gonflement de l'intestin grêle, du caecum et du colon (Xue *et al.*, 2020). Ces résultats suggèrent donc que les BCFA jouent un rôle important dans la physiologie intestinale en ciblant le NHE3.

D'autre part, certaines publications ont établi des corrélations entre les quantités de BCFA et certaines maladies comme l'anorexie mentale et la dépression. En effet, une augmentation des quantités d'isovalérate dans les selles de patients souffrant de dépression a été observée, corrélant avec une augmentation du taux de cortisol (Szczesniak *et al.*, 2016).

De même, une augmentation des quantités de BCFA a été observée dans les selles des patientes anorexiques (Mack *et al.*, 2016).

Ces observations ne permettent cependant pas de déterminer si l'altération des quantités de BCFA joue un rôle dans l'étiologie de la pathologie ou si elle est simplement la conséquence indirecte d'une altération de la composition du microbiote ou de l'alimentation des patients dans le cas de l'anorexie.

Fait intéressant, une diminution des niveaux d'isobutyrate, de 2-méthylbutyrate et d'isovalérate a été observée chez des patients atteints de rectocolite hémorragique par rapport à des témoins sains (Le Gall *et al.*, 2011). Chez ces patients, aucune différence dans les niveaux de BCAA n'a été observée suggérant que cette diminution des BCFA soit due à une diminution de l'abondance des bactéries productrices de BCFA (Le Gall *et al.*, 2011). Les bactéries commensales productrices de BCFA pourraient donc avoir un effet bénéfique dans certaines pathologies intestinales comme les MICI. Il a d'autre part été montré que, tout comme les SCFA, les BCFA pouvaient moduler la réponse immunitaire en particulier en ciblant les lymphocytes B sécréteurs d'IgA (Guo *et al.*, 2019).

En plus de l'isobutyrate, de l'isovalérate et du 2-methyl butyrate, les BCFA incluent des acides gras à longue chaîne carbonée (et ramifiée) nommées LC-BCFA (Long-Chain BCFA). Les LC-BCFA sont présents en grande quantité au niveau de la peau et dans le vernix caseosa (une substance cireuse qui recouvre la peau du fœtus) (Nicolaides *et al.*, 1972). Ils sont également retrouvés dans les membranes lipidiques de nombreuses espèces bactériennes (Ran-Ressler *et al.*, 2013). Les LC-BCFA peuvent enfin être directement apportés par l'alimentation (Taormina *et al.*, 2020).

Les LC-BCFA semblent avoir des effets bénéfiques sur la santé de l'homme. Ils possèdent notamment un effet anti-inflammatoire. Ces LC-BCFA peuvent en particulier diminuer l'expression de l'IL-8 (une cytokine pro-inflammatoire) en réponse à du LPS bactérien dans un modèle de cellules épithéliales intestinales humaines. Comme indiqué précédemment, l'IL-8 est un médiateur inflammatoire important au cours de la rectocolite hémorragique et de la maladie de Crohn.

Ainsi, les LC-BCFA pourraient jouer un rôle dans la modulation des réponses inflammatoires induites par les MICI. Par ailleurs, Ran-Ressler *et al.* ont montré qu'un régime composé d'un mélange de LC-BCFA pouvait diminuer l'inflammation dans un modèle d'entérocolite nécrosante (ECN) chez le rat (Ran-Ressler *et al.*, 2011).

Cette étude a également montré que l'administration orale de LC-BCFA pouvait modifier la composition du microbiote en augmentant l'abondance relative de bactéries possédant des taux importants de LC-BCFA dans leurs membranes.

Objectifs de la thèse

Objectifs de la thèse

Les objectifs de ce travail de thèse sont :

(1) d'étudier l'impact de métabolites produits par les bactéries commensales du microbiote intestinal, notamment les BCFA et les SCFA, sur la SUMOylation des protéines intestinales.

(2) de déterminer les conséquences de ces changements de SUMOylation sur l'activité des cellules et sur la physiologie de l'intestin.

Dans un premier temps, nous avons évalué l'effet des BCFA et des SCFA sur le profil global de SUMOylation des protéines de deux lignées de cellules épithéliales intestinales (cellules Caco-2 et T84). Nous avons en particulier déterminé les conditions optimales d'action de ces métabolites (concentration, temps d'incubation, dépendance au pH).

Dans un second temps, nous avons caractérisé les mécanismes par lesquels ces métabolites agissent sur la SUMOylation des cellules intestinales.

Enfin, nous avons étudié les conséquences fonctionnelles des variations de SUMOylation induites par ces métabolites sur la physiologie des cellules intestinales, et plus particulièrement sur la voie NF-κB.

Résultats

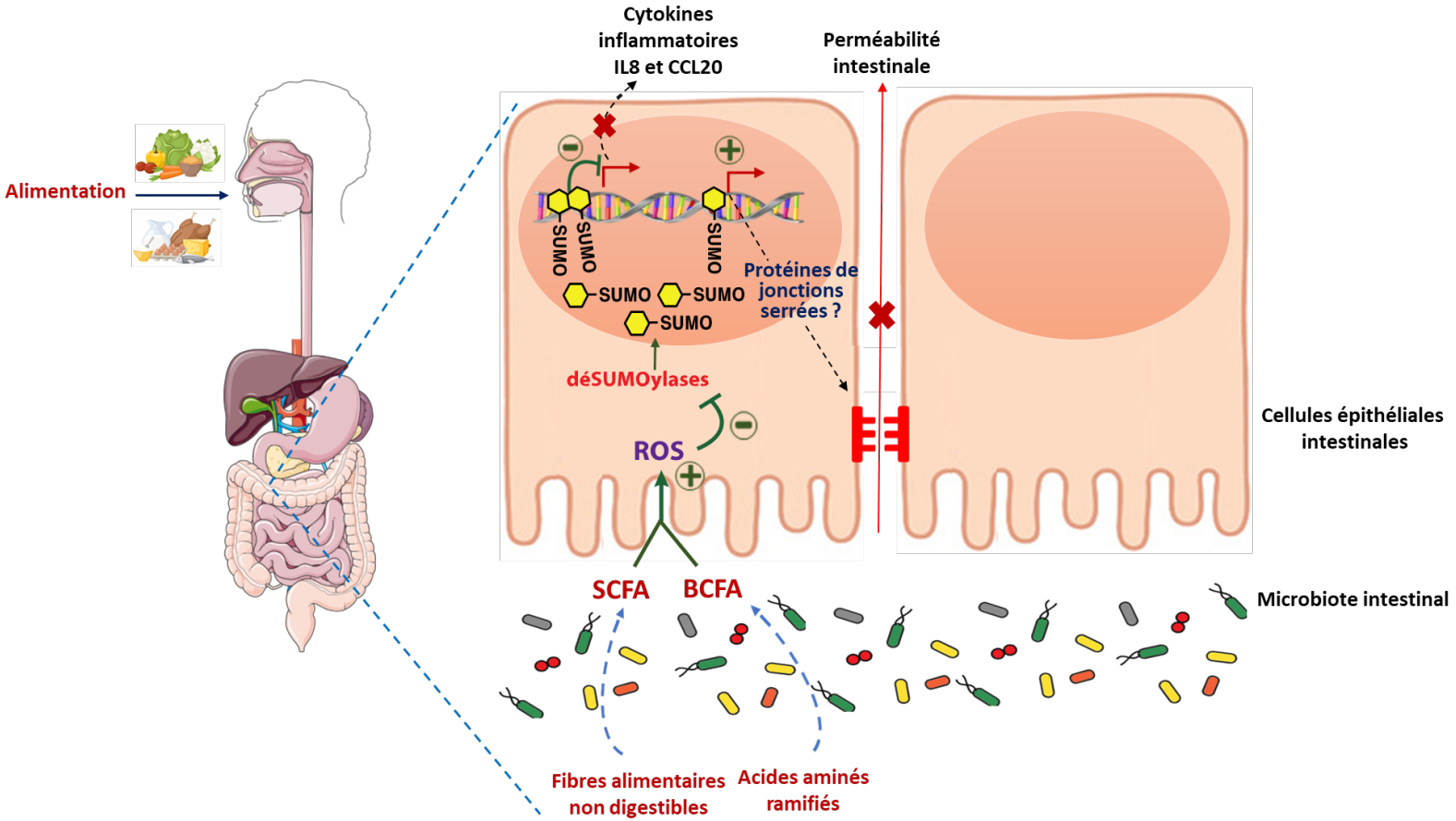


Figure 33. Résumé graphique. Le microbiote intestinal produit une grande variété de métabolites comme les acides gras à chaînes courtes (SCFA) ou à chaînes ramifiées (BCFA). Les SCFA dérivent principalement de la fermentation bactérienne des fibres alimentaires tandis que les BCFA proviennent de la dégradation des protéines de l'alimentation par les bactéries intestinales, et plus particulièrement du catabolisme des acides aminés à chaînes ramifiées. Les BCFA et les SCFA produits par le microbiote intestinal peuvent moduler l'activité des cellules épithéliales intestinales. Ces métabolites vont en particulier augmenter la SUMOylation de protéines associées à la chromatine. Cette « hyperSUMOylation » résulte de l'inactivation des déSUMOylases intestinales, suite à l'induction d'un stress oxydatif et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Cette modification du niveau de SUMOylation de protéines intranucléaires aboutit à un blocage de l'expression des cytokines inflammatoires, comme l'IL-8 ou CCL20, et favorise le maintien de l'intégrité de la barrière intestinale en réponse à des stimuli pro-inflammatoires *in vitro*.

Fatty acids produced by the gut microbiota dampen host inflammatory responses by modulating intestinal SUMOylation

Chaima Ezzine[1,2], Léa Loison[1,2], Christine Boyle-Feysot[1,2],

Pierre Déchelotte[1,2,3], Moïse Coëffier[1,2,3], David Ribet[1,2,*]

1. Normandie Univ, UNIROUEN, INSERM UMR 1073, Nutrition, Inflammation et dysfonction de l'axe intestin-cerveau, Rouen, France.

2. Normandie Univ, UNIROUEN, Institute for Research and Innovation in Biomedicine (IRIB), Rouen, France.

3. CHU Rouen, Nutrition Department, Rouen, France.

* Corresponding author: david.ribet@inserm.fr

INSERM UMR1073 – Université de Rouen

UFR Santé - 22 Boulevard Gambetta

76183 ROUEN CEDEX

Tel : 33 (0) 2 35 14 82 40

Abstract

The gut microbiota produces a wide variety of metabolites, which interact with intestinal cells and participate to host physiology. These metabolites regulate intestinal cell activities by modulating either gene transcription or post-translational modifications of gut proteins. The effect of gut commensal bacteria on SUMOylation, an essential ubiquitin-like modification in intestinal physiology, remains however unknown. Here, we show that short chain fatty acids (SCFAs) and branched chain fatty acids (BCFAs) increase protein SUMOylation in different intestinal cell lines. We demonstrate that the hyperSUMOylation induced by SCFAs/BCFAs is pH-dependent and results from the passive diffusion of these fatty acids through intestinal cell plasma membrane. Once inside cells, SCFAs/BCFAs trigger the inactivation of deSUMOylases, which are enzymes involved in the deconjugation of SUMO, *via* the induction of an oxidative stress. This inactivation favors SUMO-conjugation reactions and promote the hyperSUMOylation of chromatin-bound proteins. In order to determine the impact of these modifications on intestinal physiology, we focused on the NF-κB signaling pathway, a key player in inflammation known to be regulated by SUMOylation. We demonstrated that the hyperSUMOylation induced by SCFAs/BCFAs inhibits the activation of the NF-κB pathway by blocking the degradation of the inhibitory factor IκBα in response to TNFα. This results in a decrease in pro-inflammatory cytokines expression such as IL8 or CCL20, as well as a decrease in intestinal epithelial permeability in response to TNFα.

Together, our results reveal that fatty acids produced by gut commensal bacteria regulate intestinal physiology by modulating SUMOylation and illustrate a new mechanism of dampening of host inflammatory responses by the gut microbiota.

Keywords

Gut microbiota, Short Chain Fatty Acids (SCFAs), Branched Chain Fatty Acids (BCFAs), SUMOylation, intestinal inflammation, post-translational modifications, host-bacteria interactions.

Introduction

The gut microbiota produces a wide variety of metabolites diffusing to the intestinal mucosa and modulating intestinal cell activities (Gasaly *et al.*, 2021). Some of these metabolites may even cross the intestinal barrier and reach distant organs *via* the bloodstream or *via* nerve communications. Fatty acids constitute a major class of metabolites produced by intestinal bacteria. They include the so-called Short Chain Fatty Acids (SCFAs), which are carboxylic acids with aliphatic tails of 1 to 6 carbons (Koh *et al.*, 2016). Acetate, butyrate and propionate are the main SCFAs produced in the human colon and derive from the anaerobic catabolism of dietary fibers and proteins by intestinal bacteria (Parada Venegas *et al.*, 2019; Blaak *et al.*, 2020). Branched Chain Fatty Acids (BCFAs), such as isobutyrate, isovalerate or 2-methylbutyrate, constitute another class of bacteria-derived fatty acids with one or more methyl branches on the carbon chain. BCFA mostly derive from the breakdown of proteins by intestinal bacteria, and more particularly from the catabolism of branched-chain amino-acids (valine, leucine and isoleucine, producing isobutyrate, isovalerate or 2-methylbutyrate, respectively) (Blachier *et al.*, 2007).

Fatty acids regulate intestinal cell activities by various mechanisms. They may bind to specific receptors expressed on intestinal cells, such as GPR41/FFAR3, GPR43/FFAR2 and GPR109A, and activate various signaling pathways (Kimura *et al.*, 2020). Fatty acids may also directly enter into intestinal cells by passive diffusion or by facilitated transport. Once in intestinal cells, they participate to the cell metabolism. For example, colonocytes were shown to use butyrate as a major energy source or, alternatively, isobutyrate when butyrate availability is low (Roediger, 1980; Jaskiewicz *et al.*, 1996). Finally, fatty acids may regulate intestinal cells activity by interfering with post-translational modification such as neddylation (Kumar *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2009). The impact of fatty acids on other ubiquitin-like modifications in intestinal cells has not been described yet.

SUMOylation is an ubiquitin-like modifications consisting in the covalent addition of SUMO (Small Ubiquitin-like MOdifier) peptides to target proteins. Five SUMO paralogs have been identified in humans that share 45-97% sequence identity. SUMO1, SUMO2 and SUMO3, which are the most studied paralogs, can be conjugated to both overlapping and distinct sets of proteins (Flotho and Melchior, 2013). The conjugation of SUMO to lysine residues of target proteins is catalysed by an enzymatic machinery composed of one E1 enzyme (SAE1/SAE2), one E2 enzyme (UBC9) and several E3 enzymes (Cappadocia and Lima, 2018). SUMOylation is a reversible modification as the isopeptide bond between SUMO and its target can be cleaved by specific proteases called deSUMOylases (Kunz *et al.*, 2018). The consequences of SUMO conjugation on target proteins are very diverse and include changes in protein localization, stability, activity or interactions with other cellular components (Flotho and Melchior, 2013; Zhao, 2018; Chang and Yeh, 2020).

SUMOylation plays essential roles in intestinal physiology as it limits detrimental inflammation while participating to tissue integrity maintenance (Demarque *et al.*, 2011; Karhausen *et al.*, 2021). Interestingly, several intestinal bacterial pathogens were shown to interfere with epithelial cell SUMOylation (Ribet and Cossart, 2018). *Listeria monocytogenes*, for example, secretes a pore-forming toxin triggering the degradation of the host cell E2 SUMO enzyme and the rapid loss of SUMO-conjugated proteins (Ribet *et al.*, 2010; Impens *et al.*, 2014). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium also targets the host E2 SUMO enzymes during infection by inhibiting its translation *via* miRNA-based mechanisms (Verma *et al.*, 2015). *Shigella flexneri*, finally, similarly switches off the SUMOylation machinery by triggering a calpain-dependent cleavage of the SUMO E1 enzyme SAE2 in infected cells (Lapaquette *et al.*, 2017). In contrast to these examples of pathogens dampening intestinal cell SUMOylation, the impact of gut commensal bacteria on the SUMOylation of intestinal proteins remains unknown.

We investigate here whether bacterial metabolites derived from the gut microbiota regulate intestinal cell activities by modulating host protein SUMOylation. We demonstrate that bacterial fatty acids induce an hyperSUMOylation in intestinal cells, which dampens inflammatory responses and promotes intestinal epithelial integrity.

Material and Methods

Animals

Animal care and experimentation were approved by a regional Animal Experimentation Ethics Committee (APAFIS#21102–2019061810387832 v2) and complied with the guidelines of the European Commission for the handling of laboratory animals (Directive 2010/63/EU). All efforts were made to minimize suffering of animals.

Eight-weeks-old C57Bl/6JRj male mice (Janvier Labs, Le-Genest-Saint-Isle, France) were housed at 23°C (5 animals/cage) with a 12-h light-dark cycle in regular open cages. All animals were fed with a non-sterilized standard rodent diet (3430.PM.S10, Serlab, France). Drinking water was not sterilized. After 1 week of acclimatization to the animal facility, animals were split in two groups (5-10 animals/group): one group had no antibiotic treatment and were gavaged once a day with drinking water, while the other group received antibiotics by oral gavage once a day. For oral gavages, mice received a volume of 10 µL/g body weight of drinking water supplemented with 0.1 mg/mL Amphotericin-B, 10 mg/mL Ampicillin, 10 mg/mL Neomycin trisulfate salt hydrate, 10 mg/mL Metronidazole and 5 mg/mL Vancomycin hydrochloride (Tirelle *et al.*, 2020). This solution was delivered with a stainless steel tube without prior sedation of the mice. To prevent fungal overgrowth in the antibiotic-treated animals, mice were pre-treated with Amphotericin-B for 3 days before the beginning of the protocol (Tirelle *et al.*, 2020).

As for antibiotic treatment, Amphotericin-B was delivered by oral gavage (10 µL/g body weight of drinking water supplemented with 0.1 mg/mL Amphotericin-B) (Tirelle *et al.*, 2020).

At the end of the study, all animals were euthanized by an intraperitoneal injection of an overdose of ketamine (200 mg/kg BW) and xylazine (20 mg/kg BW). Cessation of heartbeats and non-responsiveness to noxious stimulus (hind paw pinch) were used as criteria to verify death. Different intestinal segments were then removed, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C.

Protein extraction from mouse intestinal tissues

Intestinal tissues were mechanically lysed using bead beating in a buffer containing 50 mM HEPES pH 8.0, 8 M urea buffer, supplemented with 10 mM N-ethyl-maleimide (NEM; SUMO protease inhibitor). Tissue lysates were then centrifugated for 15 min at 13,000x*g* at 4°C. Supernatents were collected, mixed with one volume of Laemmli buffer (125 mm Tris-HCl [pH 6.8], 4% SDS, 20% glycerol, 100 mm dithiothreitol [DTT], 0.02% bromphenol blue) and anlyzed by immunoblotting.

Cell culture

CACO2 (American Type Culture Collection (ATCC)-HTB-37), HeLa (ATCC-CCL2) and T84 (ATCC CCL- 248) cells were cultivated at 37°C in a 5% CO_2 atmosphere. CACO2 and HeLa cells were cultivated in Minimum Essential Medium (MEM) (Eurobio) supplemented with 2 mM L-Glutamine (Invitrogen), 10% Fetal Bovine Serum (FBS, Eurobio), non-essential aminoacids (Sigma), 1 mM sodium pyruvate (Gibco) and a mixture of penicillin (10000U/mL) and streptomycin (10mg/mL). T84 cells were cultivated in DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium F-12) (Eurobio) supplemented with 10% FBS and 2.5 mM L-Glutamine.

CACO2 and T84 cells were seeded in wells at a density of 1.1×10^5 cells/cm^2 and 1.7×10^5 cells/cm^2, respectively, the day before incubation with BCFAs or SCFAs.

Before treatments, cell culture medium was replaced by HBSS (Hanks' Balanced Salt Solution; Sigma). Cells were then treated as indicated in the text and directly lysed with Laemmli buffer. For BCFAs and SCFAs treatments, 100 mM stock solutions in water were first prepared from the corresponding acidic form (*e.g.* isobutyric acid) or from the sodium salt of the corresponding basic form (*e.g.* sodium isobutyrate) and then further diluted in cell culture media (HBSS). When needed, the pH of cell culture medium was set using either 0.1 M NaOH or 0.1 M HCl solution. For treatments with ROS inhibitors, CACO2 cells were pre-incubated for 30 min with 5 mM N-acetyl-cysteine (NAC) or 10 µM Diphenyleneiodonium (DPI) and then incubated for 1 h with 5 mM isobutyric acid or isovaleric acid. For TNFα treatments, CACO2 cells were first incubated with BCFAs or SCFAs for 1 hour and then incubated with 100 ng/mL TNFα. For immunoblotting and qRT-PCR analyses, cells were lysed after 30 min or 1h of incubation with TNFα, respectively. For Transepithelial electrical resistance (TEER) measurements, cells were incubated for 24h with TNFα.

Immunoblot analyses

Cell lysates and protein extracts from intestinal tissues in Laemmli buffer were boiled for 5 min, sonicated and protein content was resolved using SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Proteins were then transferred on PVDF membranes (GE Healthcare) and detected after incubation with specific antibodies using ECL Clarity Western blotting Substrate (BioRad). Primary and secondary antibodies used for immunoblot analyses are described in Supplementary Table S1. All displayed immunoblots are representative of at least three independent experiments. Quantifications of proteins were performed on a ChemiDoc Imaging System (Bio-rad).

Detection of Reactive Oxygen Species

Detection of ROS was adapted from (Kim *et al.*, 2019). Luminol was dissolved in NaOH 0.1 M to obtain a 50 mM stock solution. A stock solution of 1000 U/mL HRP (HorseRadish Peroxidase) was prepared in parallel in PBS (Phosphate-Buffered Saline).

After treatment with BCFAs or SCFAs, CACO2 and HeLa culture media were collected and centrifugated for 5 min at 13,000x*g* at room temperature. The pH of these culture media was then buffered to 7.5 to avoid pH-dependent interferences with luminol activity. Luminol (1 mM final concentration) and HRP (4 U/mL) were finally added to each culture media and luminescence was quantified immediately on a luminometer (Tecan).

DeSUMOylase activity

DeSUMOylase activity assays were adapted from (Kunz *et al.*, 2019). CACO2 and T84 cells grown in 12-well plates were scraped in 100 µL lysis buffer (Tris HCl pH 8.0 50 mM, EDTA 5 mM, NaCl 200 mM, Glycerol 10%, NP40 0,5%). Negative controls were prepared by adding 10 mM N-ethymaleimide (NEM; Sigma-Aldrich) to cell lysates. Recombinant human SUMO1-AMC and SUMO2-AMC proteins (R&D Systems) were diluted in parallel to 500 nM in Assay buffer (Tris HCl pH 8.0 50 mM, Bovine Serum Albumin (BSA) 100 µg/mL, Dithiothreitol (DTT) 10 mM). For each measurement, 10 µL of cell lysate were mixed with 40 µL of SUMO-AMC containing Assay buffer and fluorescence (λ_{Ex}=380 nm; λ_{Em}=460 nm) was recorded for 30 min at 37°C on a Flexstation 3 microplate reader (Molecular Devices). Measurement were performed in duplicate. DeSUMOylase activities were determined by calculating the initial rate of fluorescence emission in each lysate and by normalizing by the quantity of proteins in the corresponding sample, determined in parallel using BCA assays (Pierce^{TM} BCA Protein Assay Kit).

Cell fractionation

CACO2 cells incubated or not with 5 mM isobutyric, isovaleric or butyric acids for 5 h were washed once at room temperature in PBS, collected by scraping in ice-cold PBS, and then centrifugated at 130x*g* at 4°C for 3 min.

Cell pellets were then lysed in 5 volumes of ice-cold E1 buffer (50 mM HEPES-KOH pH 7.5; 140 mM NaCl; 1mM EDTA; 10% glycerol; 0.5% NP-40; 0.25% Triton X-100; 1 mM DTT; protease inhibitors [complete protease inhibitor cocktail tablets; Roche]) and centrifugated at 1,100x*g* at 4°C for 2 min. The supernatants (corresponding to cytosolic fractions) were then collected. Pellets were additionally washed twice in 5 volumes of E1 buffer. After 10 min of incubation on ice, pellets were centrifugated again at 1,100x*g* at 4°C for 2 min and resuspended in 2 volumes of ice-cold E2 buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.0; 200 mM NaCl; 1 mM EDTA; 0.5 mM EGTA; protease inhibitors). These suspensions were centrifugated immediately at 1,100xg at 4°C for 2min and supernatants (corresponding to nuclear soluble fractions) were collected. Pellets were additionally washed once in 2 volumes of E2 buffer. After 10 min of incubation on ice, pellets were centrifugated again at 1,100x*g* at 4°C for 2 min and then resuspended in 5 volumes of ice-cold E3 buffer (500 mM Tris-HCl pH 6.8; 500 mM NaCl; protease inhibitors) and sonicated (chromatin-bound fractions). All fractions were then centrifugated at 16,000x*g* at 4°C for 10 min and then mixed with Laemmli buffer.

Quantification of proinflammatory cytokines expression

Total RNAs were extracted from CACO2 cells using RNeasy Plus Mini kit (Qiagen) following manufacturer's instructions. For each condition, 1 µg of total RNAs was reverse transcribed using random hexamers and M-MLV reverse transcriptase (Invitrogen). Specific cDNAs were then quantified by qPCR using Itaq Universal SYBR Green Supermix (BioRad) on a Mastercycler *ep* Realplex system (Eppendorf, Hamburg, Germany).

GAPDH was used as an internal reference for normalization. Primers used in this study are hGAPDH_F (5'-TGCCATCAATGACCCCTTCA-3'), hGAPDH_R (5'-TGACCTTGCCCACAGCCTTG-3'), hIL8_F (5'-TGGCAGCCTTCCTGATTT-3'), hIL8_R (5'-AACTTCTCCACAACCCTCTG-3'), hCCL20_F (5'-TTTGCTCCTGGCTGCTTTGA-3') and hCCL20_R (5'-GCAAGTGAAACCTCCAACCC-3'). Serial dilution of target cDNAs were included on each plate to generate a relative curve and to integrate primer efficiency in the calculations.

Evaluation of intestinal epithelial permeability

CACO2 cells were seeded in Transwell inserts and cultivated for 21 days. Monolayer formation and differenciation was monitored by daily evaluation of transepithelial electrical resistance (TEER) measurement, performed with an EVOM epithelial voltohm meter equipped with ''chopstick'' electrodes. After three weeks, cell culture media were replaced by HBSS. Cells were then preincubated or not with isobutyric or isovaleric acids for 1 hour. 100 ng/mL TNFα was then added to both apical and basolateral compartments. TEER was evaluated after 24h of incubation.

Results

Gut microbiota depletion decreases intestinal protein SUMOylation.

In order to evaluate the potential impact of the gut microbiota on intestinal SUMOylation, we compared the global SUMOylation patterns of different intestinal segments either from conventional mice or from mice with a depleted gut microbiota. Depletion of mice intestinal bacteria was performed *via* the oral gavage of a cocktail of antibiotics during 7 days (Tirelle *et al.*, 2020). The global SUMOylation pattern of caecum and colon segments were analyzed by immunoblotting using anti-SUMO2/3 and anti-GAPDH antibodies (Fig. 1A).

The level of SUMO2/3-conjugated proteins (above 50 kDa) and unconjugated SUMO2/3 was quantified in each sample (Fig. 1B). We observed that mice with a depleted gut microbiota exhibit a significant decrease in the level of SUMO2/3-conjugated proteins in the caecum, and a significant increase in the level of free SUMO2/3. These results are consistent with a global deSUMOylation of intestinal proteins in response to gut microbiota depletion. These alterations in SUMO-conjugated protein levels were not observed in the colon (Fig. 1B). Together, these results suggest that the gut microbiota regulates protein SUMOylation in the caecum.

BCFAs trigger hyperSUMOylation in intestinal cell *in vitro.*

As fatty acids such as SCFAs and BCFAs are important mediators of the interactions between host and gut bacteria, we assessed whether these metabolites modulate host intestinal cell SUMOylation. We first monitored the effect of BCFAs on intestinal cell SUMOylation *in vitro* by incubating CACO2 cells for 1h or 5h with isobutyric, isovaleric or 2-methyl-butyric acids (1 mM or 5 mM final concentrations) (Fig. 2). Interestingly, we observed that all BCFAs induced an increase in the level of proteins conjugated to SUMO2/3 after 1h or 5h of incubation (at 5 mM concentration).

This hyperSUMOylation correlates with a decrease in the level of free SUMO2/3, suggesting that free SUMO2/3 moieties are *de novo* conjugated to intestinal proteins in response to BCFAs (Fig. 2). We observed similar results in another intestinal cell line, T84 cells, after incubation with isobutyric, isovaleric acids or 2-methyl-butyric acids (Fig. S1).

The effect of BCFAs on intestinal SUMOylation is pH dependent.

BCFAs are weak organic acids, which exist in solution either as acidic (R-COOH) or basic (R-COO^-) forms.

For example, addition of 5 mM isobutyric acid in HBSS medium leads to a pH of ~5.2 with approximatively 30% (*i.e.* ~1.5 mM) of isobutyric acid and 70% (*i.e.* ~3.5 mM) of isobutyrate.

In contrast, addition of 5 mM sodium isobutyrate in HBSS medium leads to a solution with a pH of ~7.5 containing approximatively 0.2% (*i.e.* ~0.01 mM) of isobutyric acid and 99.8% (*i.e.* ~4.99 mM) of isobutyrate. To decipher whether both acidic and basic forms of BCFAs can trigger hyperSUMOylation in intestinal cells, we added 5 mM isovaleric acid to CACO2 cells and increased gradually the cell culture medium pH from 5.2 to 7.0 (thereby decreasing the relative concentration of isovaleric acid and increasing those of isovalerate) (Fig. 3A). We did not observe any hyperSUMOylation when cells were incubated at pH 6.0 or 7.0, in contrast to cells incubated at pH 5.2. This suggests that only isovaleric acid (and not isovalerate) promotes SUMO-conjugation on intestinal proteins.

To rule out that the observed hyperSUMOylation was triggered only by the acidic pH of the extracellular medium obtained by the addition of fatty acids, we incubated CACO2 cells in HBSS with pH set from 5.0 to 7.0. We observed a slight increase in the level of SUMO-conjugated proteins for pH below 5.2 (Fig. 3B). This increase remains however lower than the hyperSUMOylation induced by isobutyric acid (Fig. 3B).

This result shows that although acidic pH may increase intracellular SUMOylation, it does not fully recapitulate the effect of BCFAs.

To confirm these results, we added increasing amounts of isovaleric acid to CACO2 cell culture media and set the pH between 5.2 and 7.0.

For each pH, the amount added to cells was calculated to maintain the final concentration of isovaleric acid in the cell culture medium to ~1.5 mM. We observed that this increase in BCFAs concentration restores the hyperSUMOylation observed in CACO2 cells (Fig. 3A). This result demonstrates that the acidic form of BCFAs, when present in high concentration, can trigger hyperSUMOylation even if the cell culture medium pH is neutral.

Together, these results demonstrates that the acidic forms of BCFAs can trigger intestinal cell hyperSUMOylation in a pH-dependent manner. Of note, the acidic forms of fatty acids are uncharged and freely diffusible across cellular membranes, in contrast to the basic forms, which are negatively charged and can only cross membranes thanks to specific transporters. Thus, our results suggest that the observed hyperSUMOylation depends on the passive diffusion of fatty acids across the cell membrane, which may then act intracellularly.

SCFAs also affect intestinal SUMOylation.

To complete our results obtained with BCFAs, we then determined whether SCFAs similarly impact intestinal cell SUMOylation. We incubated CACO2 cells with acetic, butyric and propionic acid for 5h (pH~5.2; 5 mM final concentration). Interestingly, we observed that SCFAs also induce an increase in the level of SUMO2/3-conjugated proteins. In contrast, incubation of cells with sodium acetate, butyrate or propionate (pH~7.5; 5 mM final concentration) did not trigger any changes in the SUMOylation pattern of CACO2 cells. Together, these results indicate that SCFAs, as observed with BCFAs, modulate intestinal protein SUMOylation in a pH-dependent manner (Fig. 3C).

BCFAs-induced hyperSUMOylation is dependent of ROS production.

Butyric acid was previously reported to induce ROS (Reactive Oxygen Species) production in both IEC-6 intestinal epithelial cells and HeLa cells (Kumar *et al.*, 2009). We thus tested whether SCFAs and BCFAs similarly induce ROS production in CACO2 and HeLa cells. For this, we used a sensitive luminol-based ROS detection assay (Kim *et al.*, 2019).

We observed that the addition of isobutyric, isovaleric or butyric acid induce ROS production in both CACO2 and HeLa cells after 1h of incubation (Fig. 4A). This oxidative stress is transient as the level of ROS was less important after 5h of incubation (Fig. 4A).

Interestingly, the oxidative stress induced by BCFAs and SCFAs is pH-dependent as no ROS were detected after incubation with sodium isobutyrate, isovalerate or butyrate (Fig. 4A). This suggests that ROS are produced only in response to the diffusion of the acidic form of BCFAs and SCFAs inside CACO2 cells.

To determine whether ROS production was responsible for the previously observed hyperSUMOylation triggered by fatty acids, we pre-incubated CACO2 cells with two ROS scavengers, N-acetyl cysteine (NAC) and Diphenyleneiodonium (DPI). These cells were then incubated with isobutyric or isovaleric acids for 5h. We observed that preincubation with these oxidative stress inhibitors block BCFAs-induced hyperSUMOylation (Fig. 4B). Together, these results demonstrate that the acidic forms of SCFAs and BCFAs trigger the production of ROS in intestinal cells, which in turn promotes SUMO-conjugation of intestinal proteins.

BCFAs inhibit intestinal cells deSUMOylases.

Global increase in SUMOylation could result either from an increase in the SUMOylation machinery's activity or from an inhibition of cellular deSUMOylases.

As deSUMOylases were reported to be sensitive to oxidative stress (Stankovic-Valentin and Melchior, 2018; Xu *et al.*, 2008), we evaluated whether BCFAs could inhibit SUMO-deconjugation in intestinal cells. For this, CACO2 and T84 cells were incubated with isobutyric or isovaleric acids and lysed. Cell lysates were then mixed with SUMO1 or SUMO2 peptides covalently linked to AMC (7-amido-4-methylcoumarin).

The activity of deSUMOylases was then quantified in these cell lysates by measuring the fluorescence intensity of AMC released after the deSUMOylase-dependent cleavage of the amide bond between AMC and SUMO (Fig. 5). Samples in which N-ethylmaleimide (NEM) was added were used as negative controls (Kunz *et al.*, 2019). We demonstrated that incubation with 5 mM isobutyric or isovaleric acids for 5 h significantly decrease the initial rate of SUMO deconjugation reactions in cell lysates, both for SUMO1- and SUMO2-AMC substrates (Fig. 5). These results indicate that deSUMOylases are inhibited in response to BCFAs exposure.

Of note, we quantified in parallel the expression levels of E1 and E2 SUMO enzymes in CACO2 cells treated with BCFAs using immunoblotting experiments. We observed that isobutyric and isovaleric acids do not alter the level of SAE1/SAE2 or UBC9 (Fig. S2).

Together, these results suggest that the hyperSUMOylation induced by BCFAs result from the inhibition of intestinal cell deSUMOylases.

BCFAs-induced ROS does not affect Cullin-1 neddylation in CACO2 cells.

In addition to SUMOylation, other Ubiquitin-like proteins such as NEDD8 were reported to be sensitive to oxidative stress. Previous reports established that ROS produced in response to butyric acid exposure inactivate the NEDD8-conjugating enzyme Ubc12 and trigger the loss of cullin-1 neddylation in HeLa cells (Kumar *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2009). We thus assessed whether BCFAs also decrease cullin-1 neddylation in CACO2 or HeLa cells.

Interestingly, we observed that isobutyric and isovaleric acid triggers cullin-1 deneddylation after 5h of incubation in HeLa, cells but not in CACO2 cells (Fig. S3). This suggests that the consequences of SCFAs/BCFAs-induced ROS are cell-type dependent and that BCFAs/SCFAs do not affect neddylation in CACO2 cells.

BCFAs promotes SUMOylation of chromatin-bound proteins.

In order to decipher whether all SUMO targets are similarly affected by fatty acids-induced hyperSUMOylation, we focused on RanGAP1, one of the main SUMO targets in human cells. We observed that the SUMOylation level of this specific target was not affected by BCFAs (Fig. S3), which suggests that only a subset of intestinal proteins are hyperSUMOylated. In order to characterize whether proteins conjugated to SUMO in response to BCFAs have a specific cellular location, we performed cell fractionation assays. Very interestingly, we observed that the level of SUMO-conjugated proteins was strongly increased only in chromatin-bound fractions (Fig. 6). This suggests that BCFAs promote the SUMOylation of chromatin-bound factors.

BCFAs and SCFAs-induced hyperSUMOylation impair NF-κB inflammatory responses.

As chromatin-bound factors are mainly involved in transcription regulation and as SUMOylation is known to regulate inflammatory responses (Boulanger *et al.*, 2021; Karhausen *et al.*, 2021), we determined whether BCFAs/SCFAs-induced hyperSUMOylation modulate inflammatory responses in intestinal cells. To do so, we incubated CACO2 cells with TNFα in the presence or absence of BCFAs.

We then quantified the expression levels of the pro-inflammatory IL8 and CCL20 cytokines by qRT-PCR. We observed that both isobutyric and isovaleric acids downregulate the transcription of IL8 and CCL20 in response to TNFα (Fig. 7A). We then compared the respective effect of the acidic or basic forms of BCFAs and SCFAs on the expression of these cytokines. We observed that the basic form of BCFAs and SCFAs partially decrease expression of IL8 and CCL20. Interestingly, we show that the acidic forms of BCFAs and SCFAs further decrease the expression of IL8 and CCL20 to the level observed in cells unstimulated by TNFα (Fig. 7A). As acidic forms are triggering hyperSUMOylation in contrast to basic forms of SCFAs/BCFAs (Fig. 3), this result strongly suggest that hyperSUMOylation contributes to pro-inflammatory cytokines downregulation in intestinal cells.

As IL8 and CCL20 expression is regulated by the NF-κB transcription factor, we tested whether BCFAs could interfere with the NF-κB signaling pathway. To do so, we focused on the degradation of the IκBα inhibitor, which is a key step in the activation of NF-κB and a pre-requisite for NF-κB translocation into the nucleus. We quantified using immunoblotting experiments the level of IκBα in CACO2 cells incubated with TNFα in the presence or absence of BCFAs and SCFAs. We observed that isobutyric, isovaleric and butyric acids block the TNFα-triggered degradation of IκBα (Fig. 7B and 7C). This inhibition was not observed with sodium isobutyrate, isovalerate and butyrate, again indicating that the hyperSUMOylation induced by the acidic forms of SCFAs/BCFAs dampen the NF-κB signaling pathway (Fig. 7B and 7C). Of note, decreasing the pH of cell culture medium to 5.2 is not sufficient to block IκBα degradation (Fig. 7B and 7C). This result is consistent with our previous observation that a decrease in the extracellular medium pH does not fully recapitulate the effect of BCFAs/SCFAs (Fig. 3B).

BCFAs and SCFAs-induced hyperSUMOylation promote intestinal epithelial integrity.

We finally determined whether BCFAs/SCFAs-induced hyperSUMOylation regulate intestinal permeability. To do so, CACO2 cells were grown for 3 weeks in Transwell systems in order to reconstitute an *in vitro* model of differentiated intestinal epithelium. Cells were then incubated with TNFα and the permeability of the obtained epithelium was monitored by measuring the transepithelial electrical resistance (TEER) between the apical and basal compartments.

Treatment of these epithelia with TNFα for 24h induce a significant decrease in TEER, which corresponds to an increase in epithelial permeability, as previously described (Fig. 7D). Interestingly, we show that co-incubation of CACO2 cells with isobutyric and isovaleric acids block this TNFα-induced increase in epithelial permeability. This result show that BCFAs promote epithelial integrity in response to inflammatory stimuli.

Discussion

Post-translational modifications are widely used by eukaryotic cells to modulate rapidly, locally and specifically the interactions or activities of key proteins. SUMOylation plays an essential role in intestinal physiology and more particularly in epithelial integrity maintenance, by controlling cell renewal and differentiation, as well as mechanic stability of the epithelium (Demarque *et al.*, 2011; Karhausen *et al.*, 2021). Not surprisingly, several pathogens were shown to manipulate intestinal SUMOylation in order to interfere with the activity of key host factors involved in infection (Ribet and Cossart, 2018). Most of these pathogens are decreasing SUMOylation, using independent mechanisms, which illustrates a nice example of evolutive convergence. In contrast to pathogens, the potential impact of gut commensal bacteria on SUMOylation has not been investigated. Here, we show that bacterial metabolites upregulate intestinal SUMOylation by controlling the activity of host deSUMOylases.

As the SUMOylation level of a given target results from the dynamic equilibrium between conjugation and deconjugation reactions, the inactivation of deSUMOylases result in the increase in protein SUMOylation levels. Interestingly, we identified that the proteins SUMOylated in response to BCFAs/SCFAs are mainly chromatin-bound proteins. As many SUMO targets are transcription factors, we can hypothesize that BCFAs/SCFAs-induced SUMOylation modify intestinal cell gene expression (Zhao, 2018; Boulanger *et al.*, 2021).

Our result show that BCFAs/SCFAs dampen inflammatory responses of intestinal cells by upregulating SUMOylation. SCFAs, and more particularly butyrate, has already been shown to have an effect on intestinal inflammation (Parada Venegas *et al.*, 2019). The potential effect of BCFAs on inflammation remain in contrast poorly documented. Interestingly, long-chain BCFAs (with more than 14 carbons) were shown to decrease the expression of IL8 in response to LPS in CACO2 cells and to decrease the incidence of necrotizing enterocolitis in a neonatal rat model (Yan *et al.*, 2017; Ran-Ressler *et al.*, 2011).

Whether these effects are triggered by the acidic form of these long-chain BFCAs, once translocated inside intestinal cells, remain to be determined. Of note, lactic acid, which is abundantely produced by the vaginal microbiota, also elicits anti-inflammatory responses on human cervicovaginal epithelial cells (Hearps *et al.*, 2017). Interestingly, only lactic acid, and not lactate, prevents pro-inflammatory cytokines expression in epithelial cells, which nicely echoes our result on the anti-inflammatory properties of the acidic forms of BCFAs/SCFAs on intestinal cells (Hearps *et al.*, 2017; Delgado-Diaz *et al.*, 2019). The vaginal pH being naturally acid (pH<4), lactic acid is the predominant form in this environment. In the case of BCFAs and SCFAs produced by gut microbiota, the intraluminal pH is varying depending on the intestinal segment. This pH ranges from 5.5-7.5 in the caecum/right colon and then increases in the left colon and rectum to 6.1-7.5 (Nugent *et al.*, 2001). Eventhough the acidic forms of SCFAs/BCFAs are not predominant in these conditions, the physiological high concentrations

of SCFAs/BCFAs (i.e. ~100 mM for SCFAs) may be high enough to have a concentration of protonated fatty acids sufficient to modulate intestinal SUMOylation.

SUMOylation has been involved in intestinal diseases such as Inflammatory Bowel Diseases (IBD). Indeed, patients with IBD show a downregulation of the UBC9 enzyme and a decrease in SUMOylated protein levels in the colon, which correlates with disease severity (Mustfa *et al.*, 2017).

These SUMO alterations, which can also be observed in a mouse model of colitis, were proposed to contribute to intestinal immune responses deregulation (Mustfa *et al.*, 2017). This hypothesis is supported by the partial inhibition of gut inflammation observed in response to PIAS1 E3 ligase overexpression in the intestine and the associated increase in SUMOylation (Yavvari *et al.*, 2019). Our results suggest that BCFAs/SCFAs may similarly limit inflammation in this context, by restoring SUMOylation in intestinal cells.

In conclusion, this work unveils a new mechanism used by the gut microbiota to modulate intestinal cell activies and dampen inflammation. It highlights in addition the therapeutic potential of SUMOylation targeting in inflammatory diseases such as IBD.

Acknowledgements

This work was supported by INSERM, Rouen University, the iXcore Foundation for Research, the Microbiome Foundation, Janssen Horizon, the European Union and Normandie Regional Council. Europe gets involved in Normandie with European Regional Development Fund (ERDF).

Figure Legends

Figure 1: Gut microbiota depletion decreases intestinal protein SUMOylation.

A, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and GAPDH levels in the caecum of mice treated or not with antibiotics (ATB). B, Quantification of SUMO2/3-conjugated proteins (above 50 kDa) and free SUMO2/3 levels, after normalization by GAPDH levels, in the caecum and colon of mice treated or not with antibiotics (ATB). Values are expressed as fold-change versus untreated mice (mean ± s.d.; *n*=4-5; *, P<0.05; **, P<0.01; NS, not significant; Student's t-test).

Figure 2: BCFAs trigger hyperSUMOylation of intestinal proteins *in vitro*

Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in CACO2 cells incubated for 1 or 5 h with 1 or 5 mM isobutyric acid (IB^{ic}), isovaleric acid (IV^{ic}) or 2-methyl-butyric acid ($2mBut^{ic}$).

Figure 3: BCFAs and SCFAs trigger hyperSUMOylation of intestinal proteins in a pH-dependent manner.

A, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in CACO2 cells incubated for 5 h with various concentrations of isovaleric acid (IV^{ic}) or sodium isovalerate (IV^{ate}) in HBSS with pH set from 5.2 to 7.5. B, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in CACO2 cells incubated with HBSS with pH set from 5.2 to 7.0 in the presence or absence of isobutyric acid (IB^{ic}). C, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in CACO2 cells incubated for 5 h with 5 mM acetic acid (Ac^{ic}), sodium acetate (Ac^{ate}), butyric acid (But^{ic}), sodium butyrate (But^{ate}), propionic acid ($Prop^{ic}$) or sodium propionate ($Prop^{ate}$).

Figure 4: BCFAs and SCFAs induce hyperSUMOylation in intestinal cells *via* ROS production.

A, Quantification of luminol activity in CACO2 (top) or HeLa cells (bottom) treated with isobutyric acid (IB^{ic}), sodium isobutyrate (IB^{ate}), isovaleric acid (IV^{ic}), sodium isovalerate (IV^{ate}), butyric acid (But^{ic}) or sodium butyrate (But^{ate}) for 1 or 5 h. Values are expressed as fold-change of untreated cells (mean ± s.d.; n=3; *, P<0.05 versus untreated; **, P<0.01; ***, P<0.001; One-way ANOVA, with Holm-Sidak's correction). B, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in CACO2 cells pre-incubated or not for 30 min with 5 mM N-acetyl-cysteine (NAC) or 10 µM Diphenyleneiodonium (DPI) and then incubated for 1 h with isobutyric acid (IB^{ic}) or isovaleric acid (IV^{ic}).

Figure 5: BCFAs inhibit intestinal cell deSUMOylases.

DeSUMOylase activities, expressed as percentage of untreated cells, in CACO2 (top) and T84 cells (bottom), treated or not with isobutyric acid (IB^{ic}) or isovaleric acid (IV^{ic}), for 1h (left) or 5h (right) (mean ± s.e.m.; n=4-5; *, P<0.05 versus CTRL; **, P<0.01; ***, P<0.001; One-way ANOVA, with Dunnett's correction).

Figure 6: BCFAs and SCFAs trigger hyperSUMOylation of chromatin-bound proteins.

Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and Lamin B1 levels in cytosolic, nuclear soluble and nuclear insoluble fractions of CACO2 cells incubated for 5 h with isobutyric acid (IB^{ic}), isovaleric acid (IV^{ic}) or butyric acid (But^{ic}).

Figure 7: BCFAs and SCFAs dampen responses to TNFα in intestinal cells.

A, Quantification of IL8 and CCL20 mRNA levels in CACO2 cells pre-treated or not for 1 hour with BCFAs or SCFAs and then incubated for 1 hour with 100 ng/mL TNFα. Values are expressed as fold change versus untreated cells (mean ± s.d.; n=3-4; *, P<0.05 vs TNFα alone; **, P<0.01; ***, P<0.001; One-way ANOVA, with Dunnett's correction). B, Immunoblot

analysis of IκBα and actin levels in CACO2 cells pre-incubated for 1 hour with 5 mM BCFAs or SCFAs, or incubated at a pH set to 5.2, and then stimulated for 30 min with 100 ng/mL TNFα. C, Quantification of IκBα levels, expressed as percentage of IκBα levels in untreated cells (mean ± s.d.; *n*=3; *, *P*<0.05 vs TNFα alone; **, *P*<0.01; One-way ANOVA, with Dunnett's correction) (IB^{ic}, isobutyric acid; IB^{ate}, sodium isobutyrate; IV^{ic}, isovaleric acid; IV^{ate}, sodium isovalerate; But^{ic}, butyric acid; But^{ate}, sodium butyrate). D, TEER in CACO2 cells grown to confluence and pre-treated or not for 1 hour with BCFAs and then incubated for 24 hours with 100 ng/mL TNFα. Values are expressed as TEER percent variations compared with cells before TNFα treatment (mean ± s.e.m.; *n*=9; **, *P*<0.01; NS, not significant; Student's t-test).

Supplementary Figures

Figure S1: BCFAs trigger hyperSUMOylation of intestinal proteins in T84 cells

Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in T84 cells incubated for 1 or 5 h with 1 or 5 mM isobutyric acid (IB^{ic}), isovaleric acid (IV^{ic}) or 2-methyl-butyric acid ($2mBut^{ic}$).

Figure S2: BCFAs do not alter the expression levels of E1 and E2 SUMO enzymes

Immunoblot analysis of UBC9, SAE1, SAE2 and actin levels in CACO2 cells incubated for 1 or 5 h with 1 or 5 mM isobutyric acid (IB^{ic}) or isovaleric acid (IV^{ic}).

Figure S3: BCFAs do not affect Cullin-1 neddylation or RanGAP1 SUMOylation in CACO2 cells

A, Immunoblot analysis of Cullin-1 and actin levels in CACO2 and HeLa cells incubated with 5 mM BCFAs or SCFAs. B, Quantification of the percentage of Cullin-1 being neddylated in each condition (mean ± s.d.; *n*=3; NS, not significant; **, *P*<0.01; One-way ANOVA, with

Dunnett's correction). C, Immunoblot analysis of RanGAP1 and actin levels in CACO2 cells incubated with 1 or 5 mM BCFAs. D, Quantification of the percentage of RanGAP1 being SUMOylated in each condition (mean ± s.d.; *n*=3; NS, not significant; One-way ANOVA, with Dunnett's correction) (IB^{ic}, isobutyric acid; IV^{ic}, isovaleric acid; But^{ic}, butyric acid).

Table S1 : Primary and secondary antibody information

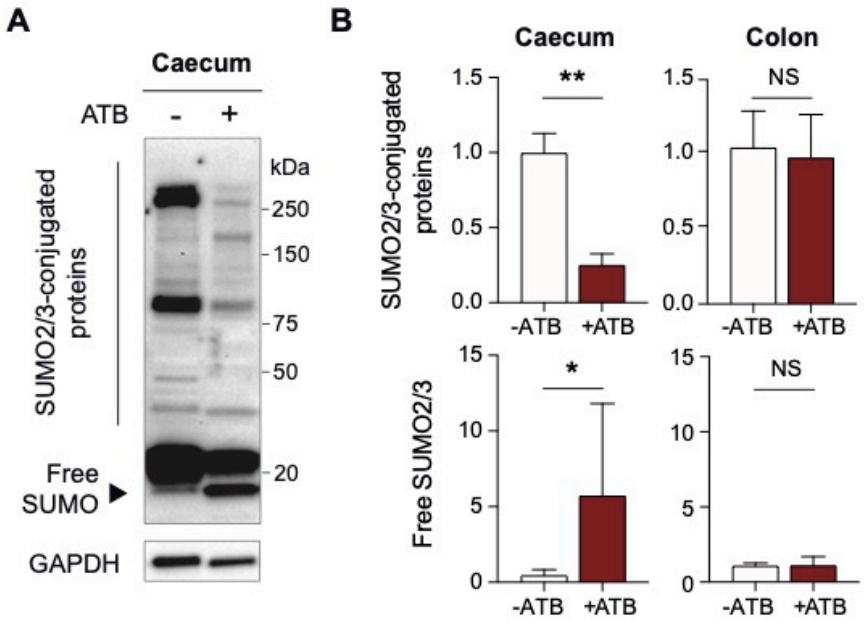


Figure 1: Gut microbiota depletion decreases intestinal protein SUMOylation

A, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and GAPDH levels in the caecum of mice treated or not with antibiotics (ATB). B, Quantification of SUMO2/3-conjugated proteins (above 50 kDa) and free SUMO2/3 levels, after normalization by GAPDH levels, in the caecum and colon of mice treated or not with antibiotics (ATB). Values are expressed as fold-change versus untreated mice (mean ±s.d.; n=4-5; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$; NS, not significant; Student's t-test).

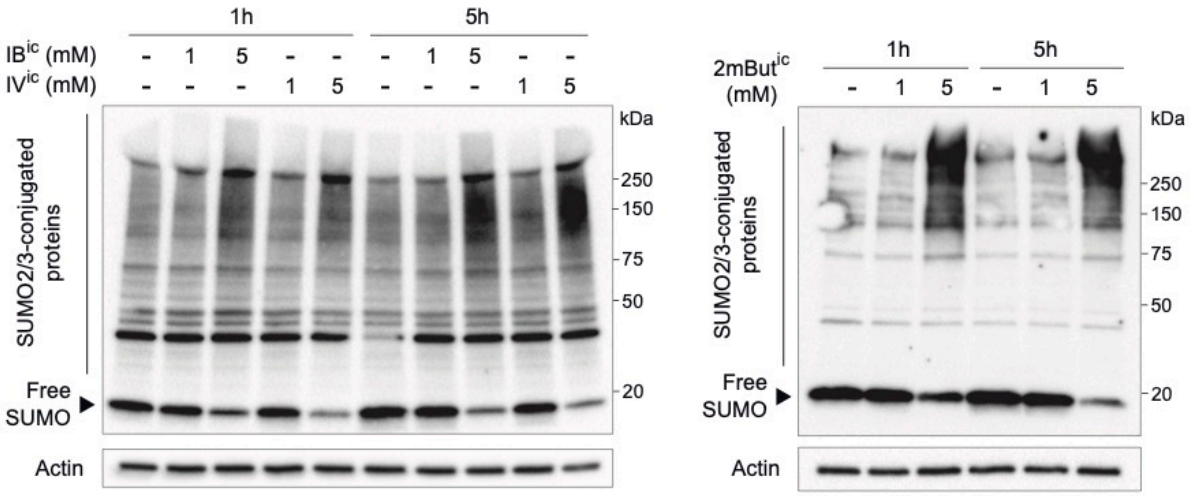


Figure 2: BCFAs trigger hyperSUMOylation of intestinal proteins *in vitro*

Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in CACO2 cells incubated for 1 or 5 h with 1 or 5 mM isobutyric acid (IB^{ic}), isovaleric acid(IV^{ic}) or 2-methyl-butyric acid ($2mBut^{ic}$).

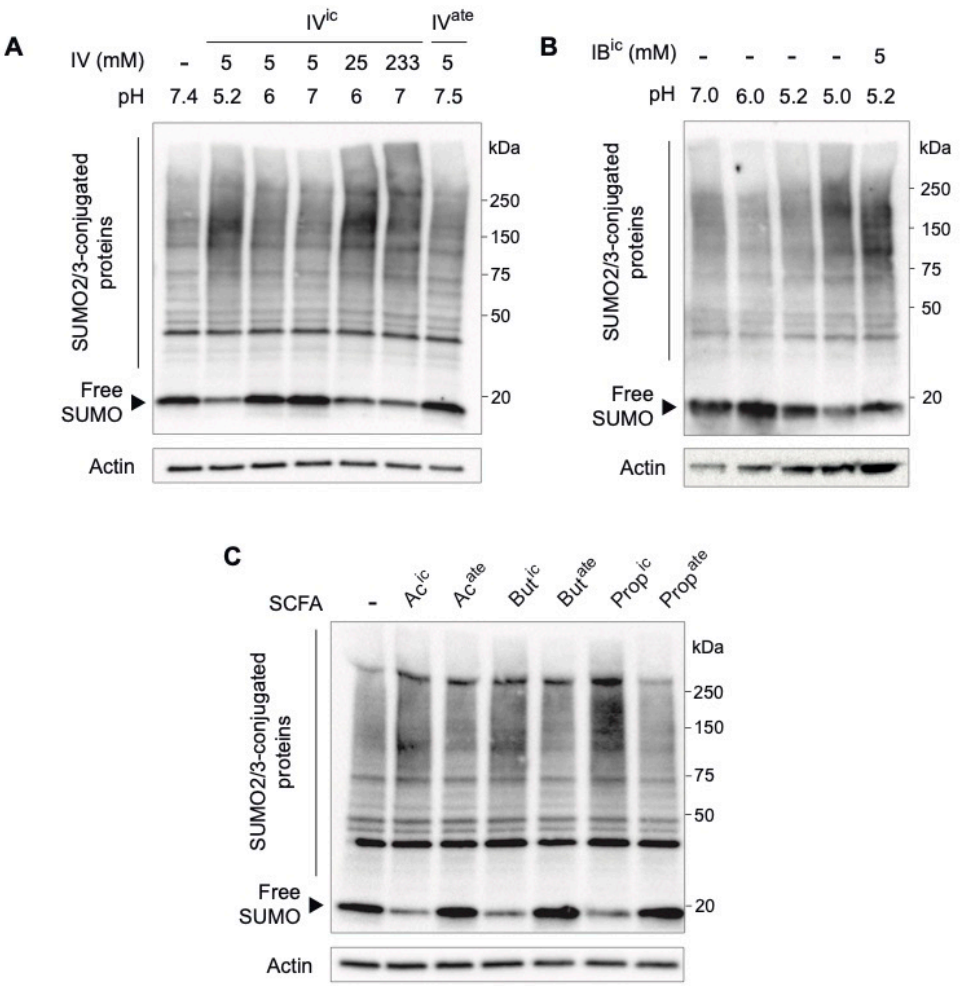


Figure 3: BCFAs and SCFAs trigger hyperSUMOylation of intestinal proteins in a pH-dependent manner

A, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in CACO2 cells incubated for 5 h with various concentrations of isovaleric acid (IV^{ic}) or sodium isovalerate (IV^{ate}) in HBSS with pHset from 5.2 to 7.5. B, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in CACO2 cells incubated with HBSS with pH set from 5.2 to 7.0 in the presence or absence of isobutyric acid (IB^{ic}).C, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in CACO2 cells incubated for 5 h with 5 mM acetic acid (Ac^{ic}), sodium acetate (Ac^{ate}), butyric acid (But^{ic}), sodium butyrate (But^{ate}),propionic acid ($Prop^{ic}$) or sodium propionate ($Prop^{ate}$).

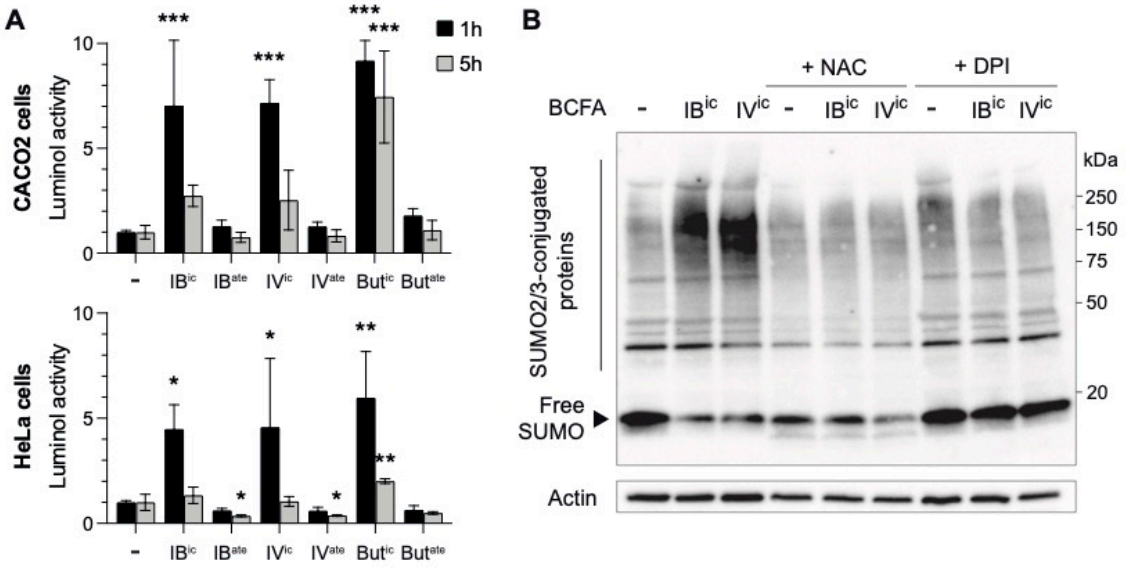


Figure 4: BCFAs and SCFAs induce hyperSUMOylation in intestinal cells *via* ROS production

A, Quantification of luminol activity in CACO2 (top) or HeLa cells (bottom) treated with isobutyric acid(IB^{ic}), sodium isobutyrate (IB^{ate}), isovaleric acid (IV^{ic}), sodium isovalerate (IV^{ate}), butyric acid (But^{ic}) or sodium butyrate (But^{ate}) for 1 or 5 h. Values are expressed as fold-change of untreated cells (mean ±s.d.; n=3; *, $P<0.05$ versus untreated; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$; One-way ANOVA, with Holm-Sidak's correction). B, Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levelsin CACO2 cells pre-incubated or not for 30 min with 5 mM N-acetyl-cysteine (NAC) or 10 µM Diphenyleneiodonium (DPI) and then incubated for 1 h with isobutyric acid (IB^{ic}) or isovaleric acid (IV^{ic}).

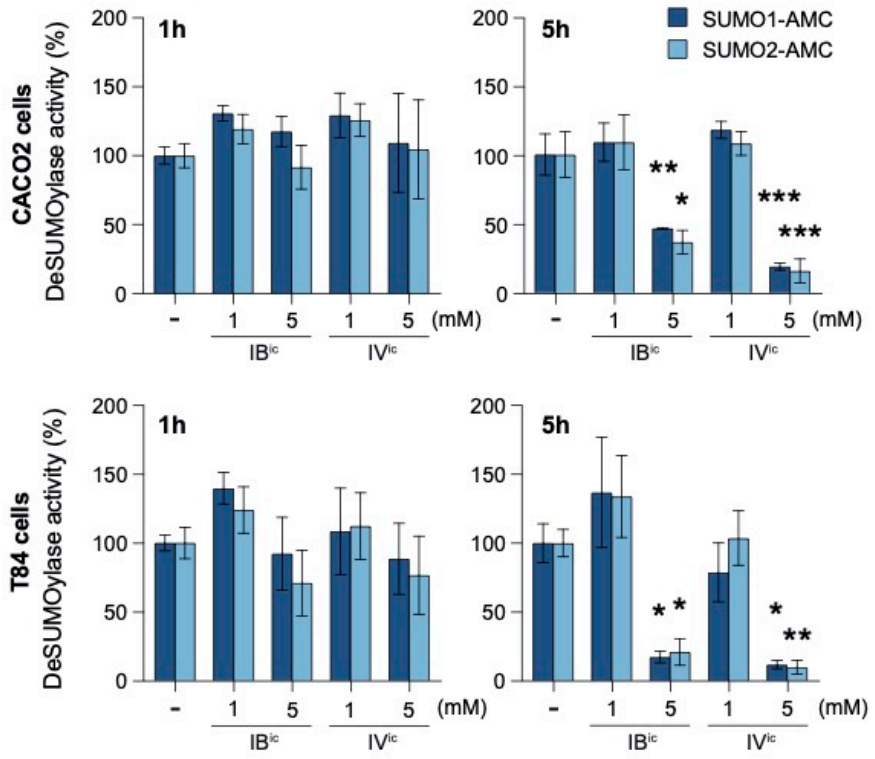


Figure 5: BCFAs inhibit intestinal cell deSUMOylases

DeSUMOylase activities, expressed as percentage of untreated cells, in CACO2 (top) and T84 cells (bottom), treated or not with isobutyric acid (IB^{ic}) or isovaleric acid (IV^{ic}), for 1h (left) or 5h (right) (mean ± s.e.m.; n=4-5; *, $P<0.05$ versus CTRL; **, $P<0.01$; ***, $P<0.001$; One-way ANOVA, with Dunnett's correction).

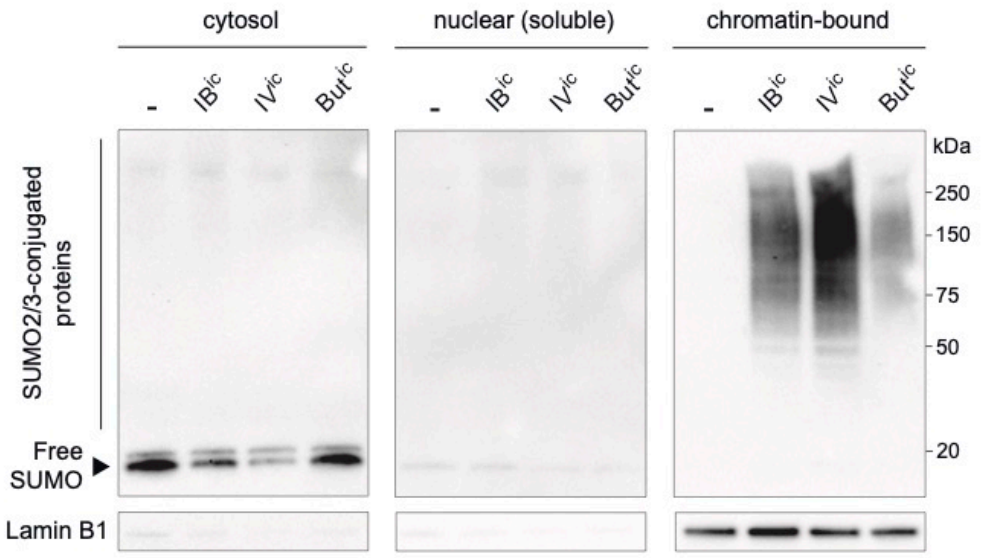


Figure 6: BCFAs and SCFAs trigger hyperSUMOylation of chromatin-bound proteins

Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and Lamin B1 levels in cytosolic, nuclear soluble and chromatin-bound fractions of CACO2 cells incubated for 5h with isobutyric acid (IB^{ic}), isovaleric acid (IV^{ic}) or butyric acid (But^{ic}).

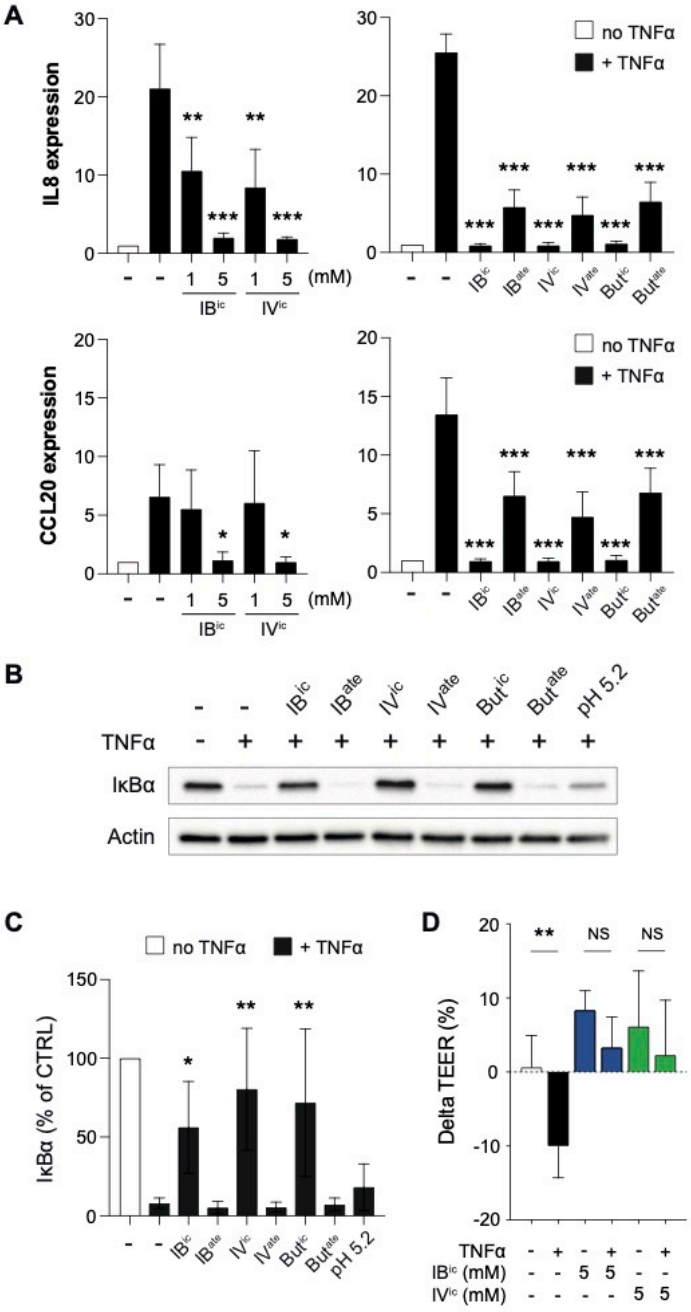


Figure 7: BCFAs and SCFAs dampen responses to TNFα in intestinal cells

A, Quantification of IL8 and CCL20 mRNA levels in CACO2 cells pre-treated or not for 1 hour with BCFAsor SCFAs and then incubated for 1 hour with 100 ng/mL TNFα. Values are expressed as fold change versus untreated cells (mean ± s.d.; n=3-4; *, *P*<0.05 vs TNFα alone; **, *P*<0.01; ***, *P*<0.001; One-way ANOVA, with Dunnett's correction). B, Immunoblot analysis of IκBα and actin levels in CACO2 cells pre-incubated for 1 hour with 5 mM BCFAs or SCFAs, or incubated at a pH set to 5.2, and then stimulatedfor 30 min with 100 ng/mL TNFα. C, Quantification of IκBα levels, expressed as percentage of IκBα levels in untreated cells (mean ± s.d.; n=3; *, *P*<0.05 vs TNFα alone; **, *P*<0.01; One-way ANOVA, with Dunnett's correction) (IB^{ic}, isobutyric acid; IB^{ate}, sodium isobutyrate; IV^{ic}, isovaleric acid; IV^{ate}, sodium isovalerate; But^{ic}, butyric acid; But^{ate}, sodium butyrate). D, TEER in CACO2 cells grown to confluence andpre-treated or not for 1 hour with BCFAs and then incubated for 24 hours with 100 ng/mL TNFα. Valuesare expressed as TEER percent variations compared with cells before TNFα treatment (mean ± s.e.m.; n=9; **, *P*<0.01; NS, not significant; Student's t-test).

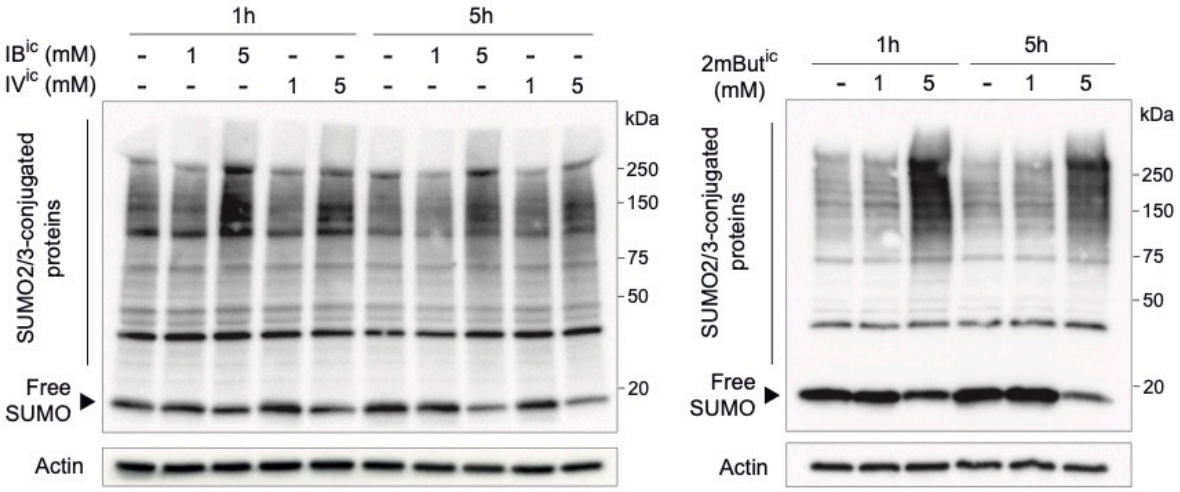


Figure S1: BCFAs trigger hyperSUMOylation of intestinal proteins in T84 cells

Immunoblot analysis of SUMO2/3-conjugated proteins, free SUMO2/3 and actin levels in T84 cells incubated for 1 or 5 h with 1 or 5 mM isobutyric acid (IB^{ic}), isovaleric acid (IV^{ic}) or 2-methyl-butyric acid ($2mBut^{ic}$).

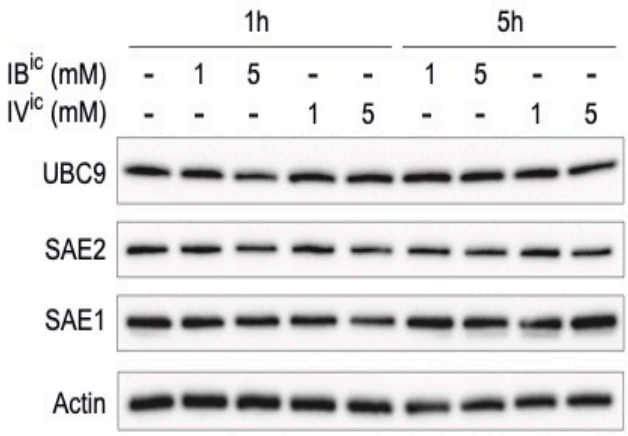


Figure S2: BCFAs do not alter the expression levels of E1 and E2 SUMO enzymes

Immunoblot analysis of UBC9, SAE1, SAE2 and actin levels in CACO2 cells incubated for 1 or 5 h with 1 or 5 mM isobutyric acid (IB^{ic}) or isovaleric acid (IV^{ic}).

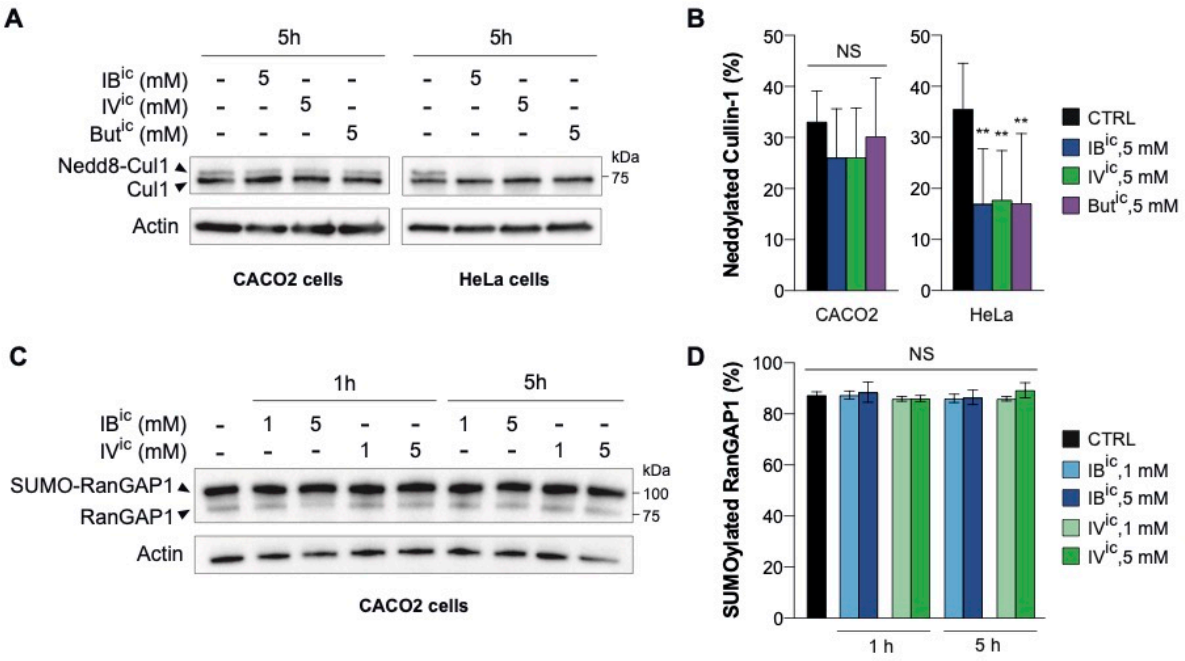


Figure S3: BCFAs do not affect Cullin-1 neddylation or RanGAP1 SUMOylation in CACO2 cells

A, Immunoblot analysis of Cullin-1 and actin levels in CACO2 and HeLa cells incubated with 5 mM BCFAs or SCFAs. B, Quantification of the percentage of Cullin-1 being neddylated in each condition (mean ± s.d.; n=3; NS, not significant; **, $P<0.01$; One-way ANOVA, with Dunnett's correction). C, Immunoblot analysis of RanGAP1 and actin levels in CACO2 cells incubated with 1 or 5 mM BCFAs. D, Quantification of the percentage of RanGAP1 being SUMOylated in each condition (mean ± s.d.;n=3; NS, not significant; One-way ANOVA, with Dunnett's correction) (IB^{ic}, isobutyric acid; IV^{ic}, isovaleric acid; But^{ic}, butyric acid).

Supplementary Table S1: Primary and secondary antibody information.

Targeted Protein	Assay (dilution)	Species	Source	Reference
Actin	WB (1:10,000)	Mouse	Sigma-Aldrich	R5441
GAPDH	WB (1:10,000)	Goat	Sigma-Aldrich	SAB2500451
SUMO3	WB (1:5,000)	Rabbit	Home-made	R205 (is2) ; {Ribet, 2017 #20}
UBC9	WB (1:1,000)	Mouse	BD Biosciences	610749
SAE1	WB (1:1,000)	Rabbit	Cell Signaling Technology	#13585
SAE2	WB (1:1,000)	Rabbit	Cell Signaling Technology	D15C11
RanGAP1	WB (1:1,000)	Rabbit	Sigma-Aldrich	R0155
Cullin-1	WB (1:1,000)	Rabbit	Cell Signaling Technology	#4995
IκBα	WB (1:1,000)	Rabbit	Cell Signaling Technology	#9242
Lamin B1	WB (1:1,000)	Rabbit	Cell Signaling Technology	D4Q4Z; #12586
Rabbit IgG (H+L)	WB (1:5,000)	Goat	Abliance	HRP-conjugated; BI 2407
Mouse IgG (H+L)	WB (1:5,000)	Goat	Abliance	HRP-conjugated; BI 2413C
Goat IgG (H+L)	WB (1:5,000)	Rabbit	Dakocytomation	HRP-conjugated; P0160

References

Blaak, E.E., Canfora, E.E., Theis, S., Frost, G., Groen, A.K., Mithieux, G., Nauta, A., Scott, K., Stahl, B., van Harsselaar, J., *et al.* (2020). Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. Benef Microbes 11, 411-455.

Blachier, F., Mariotti, F., Huneau, J.F., and Tome, D. (2007). Effects of amino acid-derived luminal metabolites on the colonic epithelium and physiopathological consequences. Amino Acids 33, 547-562.

Boulanger, M., Chakraborty, M., Tempe, D., Piechaczyk, M., and Bossis, G. (2021). SUMO and Transcriptional Regulation: The Lessons of Large-Scale Proteomic, Modifomic and Genomic Studies. Molecules 26.

Cappadocia, L., and Lima, C.D. (2018). Ubiquitin-like Protein Conjugation: Structures, Chemistry, and Mechanism. Chem Rev 118, 889-918.

Chang, H.M., and Yeh, E.T.H. (2020). SUMO: From Bench to Bedside. Physiol Rev 100, 1599-1619.

Delgado-Diaz, D.J., Tyssen, D., Hayward, J.A., Gugasyan, R., Hearps, A.C., and Tachedjian, G. (2019). Distinct Immune Responses Elicited From Cervicovaginal Epithelial Cells by Lactic Acid and Short Chain Fatty Acids Associated With Optimal and Non-optimal Vaginal Microbiota. Front Cell Infect Microbiol 9, 446.

Demarque, M.D., Nacerddine, K., Neyret-Kahn, H., Andrieux, A., Danenberg, E., Jouvion, G., Bomme, P., Hamard, G., Romagnolo, B., Terris, B., *et al.* (2011). Sumoylation by Ubc9 regulates the stem cell compartment and structure and function of the intestinal epithelium in mice. Gastroenterology 140, 286-296.

Flotho, A., and Melchior, F. (2013). Sumoylation: a regulatory protein modification in health and disease. Annu Rev Biochem 82, 357-385.

Gasaly, N., de Vos, P., and Hermoso, M.A. (2021). Impact of Bacterial Metabolites on Gut Barrier Function and Host Immunity: A Focus on Bacterial Metabolism and Its Relevance for Intestinal Inflammation. Front Immunol 12, 658354.

Hearps, A.C., Tyssen, D., Srbinovski, D., Bayigga, L., Diaz, D.J.D., Aldunate, M., Cone, R.A., Gugasyan, R., Anderson, D.J., and Tachedjian, G. (2017). Vaginal lactic acid elicits an anti-inflammatory response from human cervicovaginal epithelial cells and inhibits production of pro-inflammatory mediators associated with HIV acquisition. Mucosal Immunol 10, 1480-1490.

Impens, F., Radoshevich, L., Cossart, P., and Ribet, D. (2014). Mapping of SUMO sites and analysis of SUMOylation changes induced by external stimuli. Proc Natl Acad Sci U S A 111, 12432-12437.

Jaskiewicz, J., Zhao, Y., Hawes, J.W., Shimomura, Y., Crabb, D.W., and Harris, R.A. (1996). Catabolism of isobutyrate by colonocytes. Arch Biochem Biophys 327, 265-270.

Karhausen, J., Ulloa, L., and Yang, W. (2021). SUMOylation Connects Cell Stress Responses and Inflammatory Control: Lessons From the Gut as a Model Organ. Front Immunol 12, 646633.

Kim, J.S., Jeong, K., Murphy, J.M., Rodriguez, Y.A.R., and Lim, S.S. (2019). A Quantitative Method to Measure Low Levels of ROS in Nonphagocytic Cells by Using a Chemiluminescent Imaging System. Oxid Med Cell Longev 2019, 1754593.

Kimura, I., Ichimura, A., Ohue-Kitano, R., and Igarashi, M. (2020). Free Fatty Acid Receptors in Health and Disease. Physiol Rev 100, 171-210.

Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., and Backhed, F. (2016). From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. Cell 165, 1332-1345.

Kumar, A., Wu, H., Collier-Hyams, L.S., Hansen, J.M., Li, T., Yamoah, K., Pan, Z.Q., Jones, D.P., and Neish, A.S. (2007). Commensal bacteria modulate cullin-dependent signaling *via* generation of reactive oxygen species. EMBO J 26, 4457-4466.

Kumar, A., Wu, H., Collier-Hyams, L.S., Kwon, Y.M., Hanson, J.M., and Neish, A.S. (2009). The bacterial fermentation product butyrate influences epithelial signaling *via* reactive oxygen species-mediated changes in cullin-1 neddylation. J Immunol 182, 538-546.

Kunz, K., Muller, S., and Mendler, L. (2019). Assays of SUMO protease/isopeptidase activity and function in mammalian cells and tissues. Methods Enzymol 618, 389-410.

Kunz, K., Piller, T., and Muller, S. (2018). SUMO-specific proteases and isopeptidases of the SENP family at a glance. J Cell Sci 131.

Lapaquette, P., Fritah, S., Lhocine, N., Andrieux, A., Nigro, G., Mounier, J., Sansonetti, P., and Dejean, A. (2017). Shigella entry unveils a calcium/calpain-dependent mechanism for inhibiting sumoylation. Elife 6.

Mustfa, S.A., Singh, M., Suhail, A., Mohapatra, G., Verma, S., Chakravorty, D., Rana, S., Rampal, R., Dhar, A., Saha, S., *et al.* (2017). SUMOylation pathway alteration coupled with downregulation of SUMO E2 enzyme at mucosal epithelium modulates inflammation in inflammatory bowel disease. Open Biol 7.

Nugent, S.G., Kumar, D., Rampton, D.S., and Evans, D.F. (2001). Intestinal luminal pH in inflammatory bowel disease: possible determinants and implications for therapy with aminosalicylates and other drugs. Gut 48, 571-577.

Parada Venegas, D., De la Fuente, M.K., Landskron, G., Gonzalez, M.J., Quera, R., Dijkstra, G., Harmsen, H.J.M., Faber, K.N., and Hermoso, M.A. (2019). Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. Front Immunol 10, 277.

Ran-Ressler, R.R., Khailova, L., Arganbright, K.M., Adkins-Rieck, C.K., Jouni, Z.E., Koren, O., Ley, R.E., Brenna, J.T., and Dvorak, B. (2011). Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model. PLoS One 6, e29032.

Ribet, D., and Cossart, P. (2018). Ubiquitin, SUMO, and NEDD8: Key Targets of Bacterial Pathogens. Trends Cell Biol 28, 926-940.

Ribet, D., Hamon, M., Gouin, E., Nahori, M.A., Impens, F., Neyret-Kahn, H., Gevaert, K., Vandekerckhove, J., Dejean, A., and Cossart, P. (2010). Listeria monocytogenes impairs SUMOylation for efficient infection. Nature 464, 1192-1195.

Roediger, W.E. (1980). Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. Gut 21, 793-798.

Stankovic-Valentin, N., and Melchior, F. (2018). Control of SUMO and Ubiquitin by ROS: Signaling and disease implications. Mol Aspects Med 63, 3-17.

Tirelle, P., Breton, J., Riou, G., Dechelotte, P., Coeffier, M., and Ribet, D. (2020). Comparison of different modes of antibiotic delivery on gut microbiota depletion efficiency and body composition in mouse. BMC Microbiol 20, 340.

Verma, S., Mohapatra, G., Ahmad, S.M., Rana, S., Jain, S., Khalsa, J.K., and Srikanth, C.V. (2015). Salmonella Engages Host MicroRNAs To Modulate SUMOylation: a New Arsenal for Intracellular Survival. Mol Cell Biol 35, 2932-2946.

Xu, Z., Lam, L.S., Lam, L.H., Chau, S.F., Ng, T.B., and Au, S.W. (2008). Molecular basis of the redox regulation of SUMO proteases: a protective mechanism of intermolecular disulfide linkage against irreversible sulfhydryl oxidation. FASEB J 22, 127-137.

Yan, Y., Wang, Z., Greenwald, J., Kothapalli, K.S., Park, H.G., Liu, R., Mendralla, E., Lawrence, P., Wang, X., and Brenna, J.T. (2017). BCFA suppresses LPS induced IL-8 mRNA expression in human intestinal epithelial cells. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 116, 27-31.

Yavvari, P.S., Verma, P., Mustfa, S.A., Pal, S., Kumar, S., Awasthi, A.K., Ahuja, V., Srikanth, C.V., Srivastava, A., and Bajaj, A. (2019). A nanogel based oral gene delivery system targeting SUMOylation machinery to combat gut inflammation. Nanoscale 11, 4970-4986.

Zhao, X. (2018). SUMO-Mediated Regulation of Nuclear Functions and Signaling Processes. Mol Cell 71, 409-418.

Discussion

Discussion et perspectives :

Mes travaux de recherche de doctorat se sont intéressés à un aspect encore inconnu de l'interaction microbiote/cellules intestinales, à savoir l'impact des bactéries commensales sur la SUMOylation des protéines intestinales.

- ***Mise en évidence de l'impact du microbiote intestinal sur la SUMOylation intestinale***

Dans notre étude, nous avons caractérisé, dans un premier temps, les modifications du profil de SUMOylation de différents segments intestinaux de souris en réponse à une déplétion du microbiote par antibiothérapie. Nous avons montré que la déplétion du microbiote induisait une diminution de la SUMOylation globale et une augmentation des formes non conjuguées de SUMO2/3 dans le caecum des souris. A notre connaissance, aucune étude n'avait encore évalué l'effet potentiel du microbiote intestinal sur la SUMOylation des cellules intestinales. Nos résultats suggèrent donc pour la première fois que les bactéries commensales du microbiote modulent la SUMOylation des protéines intestinales.

Pour compléter ces résultats, il serait intéressant de comparer le profil de SUMOylation entre des souris conventionnelles et des souris axéniques. Ceci permettrait de confirmer l'effet spécifique du microbiote sur la régulation de la SUMOylation des protéines intestinales. Il serait alors possible de recoloniser ces souris axéniques avec des bactéries produisant ou non des BCFA/SCFA afin de confirmer l'effet de ces métabolites sur la SUMOylation des protéines intestinales dans un modèle *in vivo*.

- ***Les BCFA induisent une hyperSUMOylation des cellules intestinales***

Les SCFA et les BCFA, qui font partie des métabolites principaux produits par les bactéries commensales du tractus digestif, sont d'importants médiateurs des interactions hôte-microbiote intestinal. Contrairement aux SCFA, l'impact des BCFA sur la physiologie intestinale et sur l'homéostasie de l'hôte en général est peu connu (Rios-Covian *et al.*, 2020).

Dans le cadre de mon projet de doctorat, nous avons montré que les BCFA, et notamment l'acide isovalérique, l'acide 2-methyl-butyrique et l'acide isobutyrique, augmentent la

SUMOylation des protéines conjuguées à SUMO2/3 dans deux lignées différentes de cellules épithéliales de l'intestin (Caco-2 et T84).

Ces résultats mettent en évidence, pour la première fois, la capacité de métabolites du microbiote intestinal à modifier l'équilibre SUMOylation/déSUMOylation des protéines de l'intestin chez l'homme.

- ***L'effet des BCFA sur la SUMOylation intestinale est dépendant du pH***

De façon intéressante, nous avons ensuite montré que cet effet était aussi induit par des SCFA comme l'acide acétique, l'acide butyrique ou l'acide propionique. Les points communs de ces différents métabolites sont (1) la présence d'un groupement acide carboxylique (pouvant donc exister en solution soit sous forme « acide » -COOH soit sous forme « base » $-COO^-$) et (2) la présence d'une chaîne carbonée hydrophobe (de longueur variable).

Nous avons fait l'hypothèse que l'effet de ces métabolites sur la SUMOylation était dépendant du pH du milieu. Nous avons comparé l'effet soit des formes « acides » soit des formes « bases » des BCFA et des SCFA sur la SUMOylation des cellules intestinales. L'ajout de 5 mM d'acide isobutyrique ($(CH_3)_2$-CH-COOH), par exemple, dans le milieu de culture des cellules induit un pH de 5,2, alors que l'ajout de 5 mM d'isobutyrate ($(CH_3)_2$-CH-COO^-) induit un pH de 7,5. Nous avons pu montrer que l'hyperSUMOylation induite par les BCFA et les SCFA n'était observée que si le pH du milieu de culture des cellules était acide (pH~5,2). L'effet sur la SUMOylation est en fait dépendant de la concentration de la forme « acide » présente dans le milieu. L'importance du pH du milieu sur l'effet des BCFA/SCFA peut alors s'expliquer par le fait que l'acidification du milieu permet d'augmenter la part relative de la forme « acide » par rapport à la forme « base » selon la formule : $[acide]/[base]=10^{pKa-pH}$. Par exemple, pour le couple acide isobutyrique/isobutyrate (pKa=4,86), ce rapport est de 0,46 à pH=5,2 et seulement de 0,002 à pH=7,5 (forme acide très minoritaire dans ce dernier cas).

De façon intéressante, il a été démontré que la forme « acide » des SCFA (et probablement des BCFA) est liposoluble et perméable aux membranes cellulaires (Charney *et al.*, 1998 ; Stein *et al.*, 2000). La forme « base », au contraire, ne peut pas diffuser à travers la membrane plasmique du fait de sa charge négative.

Notre hypothèse est que la modulation de la SUMOylation par les SCFA/BCFA dans les cellules intestinales dépend de la diffusion passive de la forme « acide » à travers la membrane plasmique des cellules (et ne nécessite donc pas, *a priori*, de récepteurs spécifiques ou de transports actifs). Une fois à l'intérieur des cellules intestinales, ces métabolites vont agir sur la SUMOylation. Certaines études ont démontré que la diffusion passive de formes acides de SCFA et de BCFA dans les cellules de l'épithélium colique pourrait induire une diminution du pH intracellulaire (pHi). Ceci activerait en retour des mécanismes de régulations de l'homéostasie acido-basique dans les cellules (DeSoignie et Sellin, 1994 ; Chu et Montrose, 1995 ; Sellin, 1999). Les BCFA/SCFA pourraient donc induire une diminution du pH intracellulaire aboutissant en retour à un déséquilibre des réactions de SUMOylation/déSUMOylation. Il serait donc intéressant de mettre en évidence cette diminution du pHi, par exemple en utilisant des sondes fluorescentes dépendantes des changements de pH (Yue *et al.*, 2016).

L'existence de transporteurs spécifiques des formes acides des BCFA/SCFA reste inconnue à l'heure actuelle. La plupart des transporteurs identifiés impliquent les SCFA sous leur forme « base » (chargée négativement). La capacité de ces transporteurs à prendre en charge également les formes « acides » est mal caractérisée. Cette caractérisation constituerait une étape importante et nécessaire pour discriminer les différentes voies d'action des BCFA/SCFA (signalisation *via* des récepteurs, impact intracellulaire sur le métabolisme, inducteur de ROS, etc).

- ***Variations du pH intestinal***

Chez l'homme, le pH du tractus digestif varie en fonction du segment considéré. Ces variations sont dépendantes des concentrations locales de métabolites acides dérivés du microbiote, comme les SCFAs et les BCFAs (Blachier *et al.*, 2017). Le côlon ascendant contient les concentrations les plus élevées de SCFAs et des BCFAs, et, de fait, un pH luminal légèrement acide, allant de 5,5 à 6,5. Les concentrations en SCFA/BCFA diminuent progressivement dans les autres segments du côlon, ce qui corrèle avec une augmentation du pH de ces segments jusqu'à des valeurs de 6,1 à 7,5 dans le côlon descendant et le rectum (Wächtershäuser et Stein, 2000 ; Nugent *et al.*, 2001).

Sachant que la proportion de formes « acides » des SCFA/BCFA est dépendante du pH, comme mentionné précédemment, cette variation de pH le long du tractus digestif suggère que la « biodisponibilité » des formes « acides » de ces métabolites est variable. Il existe donc des segments intestinaux (avec un pH faible et des concentrations locales en SCFA/BCFA) qui sont potentiellement exposés à des quantités importantes des formes « acides » d'acides gras.

- ***L'hyperSUMOylation induite par les acides gras dépend de la production de ROS***

Nous avons pu démontrer que les SCFA et les BCFA induisent une production transitoire de ROS dans les cellules Caco-2 et les cellules HeLa. Cette production de ROS est pH-dépendante, suggérant qu'il s'agit d'un effet de la forme « acide » des SCFA et BCFA. Cette production de ROS pourrait donc résulter de l'acidification intracellulaire induite par les BCFA/SCFA.

Des études récentes ont montré que plusieurs bactéries commensales du microbiote intestinal humain avaient la capacité d'induire un stress oxydant *via* la production de ROS (Kumar *et al.*, 2007). Les surnageants de culture de plusieurs bactéries commensales comme *Lactobacillus rhamnosus* ou *Bacteroides thetaiotaomicron*, mais également l'acide butyrique, induisent la production de ROS dans des cellules épithéliales intestinale IEC-6, ainsi que dans des cellules HeLa (Kumar *et al.*, 2007 ; Kumar *et al.*, 2009).

Dans notre étude, nous avons démontré que l'hyperSUMOylation des protéines de Caco-2 induite par les BCFA et les SCFA était dépendante de la production de ROS et du stress oxydant associé. En effet, la préincubation de cellules Caco-2 avec des inhibiteurs du stress oxydant (N-Acétyl Cysteine (NAC) et le Diphenyleneiodinium (DPI)) bloque l'hyperSUMOylation induite par les SCFA et BCFA.

Plusieurs études ont mis en évidence un lien entre ROS et augmentation de la quantité de protéines SUMOylées dans les cellules de Mammifères (Saitoh et Hinchey, 2000 ; Manza *et al.*, 2004 ; Bossis et Melchior, 2006 ; Zhou *et al.*, 2004 ; Leitao et al, 2011). Cette « hyperSUMOylation » est essentielle pour une réponse adéquate de la cellule au stress oxydant et pour le maintien d'un équilibre rédox optimal dans la cellule (Tempe *et al.*, 2008).

Les ROS, produits en quantité faible, peuvent également jouer le rôle de seconds messagers clés dans la signalisation cellulaire (« signalisation redox ») chez les Mammifères (Yun et Finkel, 2014 ; Stankovic-Valentin et Melchior, 2018 ; Ballard et Towarniki, 2020).

De faibles niveaux de ROS semblent nécessaires pour de nombreuses fonctions cellulaires (Buchon *et al.*, 2009 ; Jones *et al.*, 2014).

La génération de ROS peut se faire par les mitochondries, par des enzymes homologues à la NADPH oxydase des cellules phagocytaires (NOX) ou par la 5'-lipoxygénase (Ballard et Towarniki, 2020). Dans notre étude, l'utilisation du DPI, qui est un inhibiteur de ROS mitochondriaux, bloque l'effet des BCFA sur la SUMOylation, suggérant que les ROS produits en réponse à ces métabolites sont, au moins en partie, générés par les mitochondries (Fedoseeva *et al.*, 2017). D'autre part, il a été montré que l'ajout de butyrate pouvait induire la libération de ROS mitochondriaux, ce qui confirme nos résultats (Kumar *et al.*, 2009).

- ***Les BCFA inhibent les déSUMOylases dans les cellules intestinales***

Etant donné que les enzymes régulatrices de la SUMOylation sont sensibles au stress oxydant et aux ROS (Stankovic-Valentin et Melchior, 2018), l'hyperSUMOylation induite par les BCFA/SCFA pourrait donc résulter soit d'une augmentation de l'activité de la machinerie de SUMOylation, soit d'une diminution de l'activité des déSUMOylases. Dans notre étude, nous avons montré que les BCFA inhibaient l'activité des déSUMOylases mais n'avaient aucun effet sur l'expression des enzymes de la machinerie SUMO E1 (SAE1/SAE2) et SUMO E2 (Ubc9). Nos résultats suggèrent que l'hyperSUMOylation observée est due à une altération de l'équilibre conjugaison/déconjugaison de SUMO.

Il a été déjà montré qu'une forte concentration de ROS (10 mM H_2O_2) pouvait induire une hyperSUMOylation massive en inactivant les déSUMOylases (Bossis et Melchior, 2006 ; Xu *et al.*, 2008). Les déSUMOylases peuvent être modifiées soit de façon réversible, soit de façon irréversible lors de l'exposition à divers degrés de stress oxydant. Le H_2O_2 peut inhiber irréversiblement l'activité de SENP2 en oxydant sa cystéine catalytique. En outre, l'activité de déconjugaison de SENP1 peut être inhibé réversiblement par le H_2O_2, *via* l'établissement d'un pont disulfure intermoléculaire (Xu *et al.*, 2008 ; Stankovic-Valentin et Melchior, 2018). Les ROS peuvent agir sur SENP3 au niveau de deux résidus cystéines distincts. Un léger stress oxydant augmente l'activité de SENP3 alors qu'un fort stress oxydant la réduit (Wang *et al.*, 2012).

D'autre part, il a été démontré que des concentrations de ROS modérées (1 mM de H_2O_2) diminuaient la SUMOylation en inactivant de façon réversible les enzymes de la machinerie de SUMOylation comme SAE2 ou UBC9, *via* la formation de ponts disulfure entre leurs cystéines catalytiques (Bossis et Melchior, 2006). Les BCFA induisant une hyperSUMOylation, ce mécanisme n'est probablement pas impliqué ici.

- ***Effet de BCFA sur la Neddylation***

Il a été montré que l'induction de ROS par l'acide butyrique pouvait induire une inhibition de la neddylation de la Cullin-1 dans les cellules HeLa. Le mécanisme impliqué passe par une inactivation réversible d'UBC12, l'enzyme de conjugaison de NEDD8. Le blocage de la neddylation de la Cullin-1 aboutit à une inhibition de la voie de signalisation NF-κB (Kumar *et al.*, 2009). Nous avons donc évalué si les BCFA diminuaient également la neddylation de la Cullin-1 dans les cellules Caco-2 et HeLa. Nos résultats ont montré que les ROS induits par les BCFA inhibaient la neddylation de la Cullin-1 dans les cellules HeLa, comme observé dans l'étude de Kumar *et al.*, mais pas dans les cellules Caco-2.

Cela suggère que les conséquences des ROS induites par les BCFA dépendent du type cellulaire. La spécificité des réponses aux ROS est en effet modulée par le type de ROS produit, leur concentration, la durée de leur production ou leur lieu de production (Jones *et al.*, 2012). Ces différents paramètres pourraient expliquer les variations d'effets des ROS produits en réponse aux BCFA en fonction des types cellulaires.

- ***Les BCFA favorisent la SUMOylation des protéines liées à la chromatine***

Pour comprendre l'impact potentielle d'une hyperSUMOylation sur la physiologie cellulaire, il est important de caractériser la nature des protéines SUMOylées. L'augmentation de la SUMOylation induite par les BCFA est majoritairement observée au niveau des protéines de haut poids moléculaire. Nous avons montré que les BCFA n'avaient pas d'effet sur la SUMOylation de RanGAP1, qui est une des principales cibles de SUMO chez l'Homme. Ceci suggère que seules certaines protéines spécifiques sont affectées par cette hyperSUMOylation. Fait intéressant, nous avons montré que la majorité des protéines hyperSUMOylées étaient localisés dans le noyau, en particulier dans la fraction chromatinienne.

Ceci suggère que les BCFA stimulent la SUMOylation de facteurs de liaison à l'ADN, et donc probablement des protéines impliquées dans la régulation de l'expression des gènes des cellules intestinales.

SUMO peut être considéré comme un composant intégral de la chromatine régulant divers programmes transcriptionnels (Neyret-Kahn *et al.*, 2013). Diverses protéines associées à la chromatine telles que des facteurs de transcription peuvent être SUMOylées.

La SUMOylation est généralement associée à une inhibition de la transcription, même si plusieurs exemples d'activation de la transcription ont également été décrits (Boulanger *et al.*, 2021). L'hyperSUMOylation induite par les BCFA pourrait donc moduler l'expression de gènes impliqués par exemple dans la régulation de la réponse inflammatoire (voie NF-κB) ou dans le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale intestinale (protéines de jonction serrées).

De façon intéressante, certaines SENP sont associées à la chromatine, comme SENP7 (Garvin *et al.*, 2013), SENP1 (Rodríguez-Castañeda *et al.*, 2018), SENP6 (Wagner *et al.*, 2019) et SENP3 (Wang *et al.*, 2013). Ces SENP régulent notamment le niveau de SUMOylation de facteurs chromatiniens. Une hypothèse serait que les SENP inactivées en réponse aux BCFA soient préférentiellement les SENP associées à la chromatine, ce qui expliquerait l'accumulation observée de protéines SUMOylées dans ce « compartiment » très spécifique.

Afin de compléter nos résultats, nous pourrions à l'aide des techniques de ChIPseq (ImmunoPrecipitation de la Chromatine couplées à des analyses transcriptomiques) identifier les régions du génome où s'accumulent les protéines hyperSUMOylées en réponse aux BCFA et étudier l'altération de l'expression des gènes dans ces zones. L'analyse de la présence de protéines SUMOylées au niveau du promoteur de gènes spécifiques comme l'IL8 ou CCL20, dont l'expression est altérée en réponse aux BCFA, serait également intéressante.

Une autre approche serait de caractériser les protéines dont le niveau de SUMOylation est modifié en réponse aux BCFA par des techniques de protéomique quantitative (Impens *et al.*, 2012). Ceci permettrait d'identifier de potentielles voies de signalisation ou des réseaux de protéines impliquées dans des fonctions cellulaires spécifiques, qui seraient régulés par la SUMOylation induite par les BCFA. Ces identifications seront indispensables pour comprendre comment les BCFA peuvent, *via* la SUMOylation, modifier la physiologie intestinale.

- ***Les BCFA altèrent les réponses inflammatoires et la voie NF-κB***

Afin de mieux comprendre quelles sont les conséquences de l'hyperSUMOylation sur la physiologie des cellules intestinales, nous nous sommes focalisés sur la voie de signalisation NF-κB, qui joue un rôle essentiel dans l'inflammation intestinale.

Cette voie est en effet connue pour être régulée par la SUMOylation (Mab et Miyamoto, 2007 ; Andrisio *et al.*, 2017 ; Liu *et al.*, 2017).

Nous avons montré qu'en présence de BCFAs, les cellules intestinales présentaient une diminution importante de l'expression de l'ARNm d'IL8 et de CCL20 en réponse au TNFα.

En temps normal, le facteur NF-κB est séquestré dans le cytoplasme par sa protéine inhibitrice IκBα. En en réponse au TNFα, IκBα est ubiquityné et dégradé par le protéasome. NF-κB est alors « libéré » et transloqué dans le noyau où il active la transcription de gènes cibles spécifiques, en particulier ceux codants pour des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL8. Dans certains cas, IκBα peut être SUMOylé ce qui bloque sa capacité à être ubiquityné (compétition pour la même lysine). La SUMOylation d'IκBα inhibe sa dégradation et favorise donc le maintien de NF-κB dans un état « inactif », séquestré dans le cytosol (Desterro *et al.*, 1998 ; Mab et Miyamoto, 2007). Nous avons, dans notre étude, démontré que les BCFAs bloquaient la dégradation d'IκBα induite par le TNFα, de façon pH-dépendante (ce blocage est uniquement observé pour les formes « acides » des BCFA et pas pour les formes « bases »). Ceci suggère fortement que cette inhibition est dépendante de l'hyperSUMOylation induite par les BCFA sous leur forme « acide ». Ces résultats suggèrent donc que le facteur NF-κB reste séquestré dans le cytoplasme des cellules en réponse aux BCFA. De façon surprenante, nous avons obtenu des données préliminaires montrant que le facteur IκBα, ainsi que le facteur NF-κB étaient en fait transloqués dans le noyau en réponse aux BCFA. La translocation nucléaire d'IκBα a été observé dans quelques études (Cressman et Taub, 1993 ; Zabel *et al.*, 1993 ; Arenzena-Seisdedos, 1995). Il s'agirait d'un mécanisme d'inhibition supplémentaire du facteur NF-κB dans le compartiment nucléaire et donc de l'expression des gènes régulés par ce dernier. La présence d'IκBα dans le noyau et sa fixation à NF-κB inhiberait la capacité de liaison à l'ADN de NF-κB et son activité transcriptionnelle (Arenzena-Seisdedos *et al.*, 1995 ; Arenzena-Seisdedos *et al.*, 1997). Les mécanismes par lesquels les BCFA induisent la translocation d'IκBα dans le noyau et les conséquences exactes de cette translocation sur l'activité transcriptionnelle de NF-κB et le programme transcriptionnel de la cellule restent maintenant à déterminer.

- ***Les BCFA bloquent l'augmentation de la perméabilité de l'épithélium intestinal***

En parallèle de notre étude de la voie de signalisation NF-κB, nous avons étudié l'impact de l'hyperSUMOylation induite par les BCFA sur la perméabilité de la barrière intestinale en réponse au TNFα dans un modèle *in vitro* de monocouche des cellules épithéliales intestinales. Ce système est l'un des modèles *in vitro* les plus utilisés dans l'étude de la perméabilité intestinale (Hidalgo *et al.*, 1989). L'altération de la barrière intestinale dans ce modèle par le TNFα est bien documentée et se caractérise par une augmentation de la perméabilité intestinale (Mashukuva *et al.*, 2011 ; Al-Sadi *et al.*, 2016).

L'augmentation de la perméabilité intestinale en réponse au TNFα a également été observé *in vivo* (Gibson, 2004). Nous avons observé que le traitement des cellules Caco-2 par le TNFα induisait une augmentation de la perméabilité intestinale, comme attendu. En revanche, l'ajout des acides isobutyrique et isovalérique bloque l'augmentation de perméabilité induite par le TNFα. Ce résultat suggère que les BCFA pourraient renforcer l'intégrité de la barrière intestinale dans des contexte d'inflammation intestinale.

De façon intéressante, des concentrations physiologiques de SCFA améliorent la fonction de la barrière intestinale en augmentant la résistance trans-épithéliale (TEER) dans des monocouches des cellules T84 et Caco-2. Cet effet protecteur des SCFA sur les cellules épithéliales intestinales est pH-dépendant, et médiée spécifiquement par les formes « acides » des SCFA diffusant librement à travers la membrane plasmique (Suzuki *et al.*, 2008). Ces données sont tout à fait en accord avec nos résultats et pourraient impliquer une modification de la SUMOylation de certaines protéines de ces cellules.

- ***La modulation de la SUMOylation par les BCFA : un intérêt potentiel dans le traitement des MICI ?***

L'ensemble de nos travaux montrent pour la première fois que les BCFA produits par les bactéries du microbiote intestinal peuvent réguler l'activité des cellules intestinales en modulant la SUMOylation de leurs protéines. Ces résultats illustrent un nouveau mécanisme de régulation de la physiologie intestinal par le microbiote et ouvrent la voie à une potentielle utilisation de ces métabolites dans le traitement de l'inflammation intestinale.

Les MICI constituent un cadre très intéressant pour une application potentielle de l'effet anti-inflammatoire des SCFA/BCFA.

Il est intéressant de noter que les gradients de concentrations locales en SCFA sont inversement proportionnels à la distribution anatomique et l'intensité des lésions inflammatoires observées dans les MICI (notamment dans la rectocolite hémorragique ; Cotran *et al.*, 1999). De plus, le pH luminal est plus bas chez les patients atteints de RH par rapport aux volontaires sains. Chez les patients atteints de RH « active », le pH du colon proximal peut diminuer à moins de 5,5 (Nugent *et al.*, 2000), et atteindre même une valeur extrêmement acide (entre 2,3 et 3,4) chez les patients atteints de RH de gravité sévère (Fallingborg *et al.*, 1989). Ce pH serait donc particulièrement favorable à l'activité des SCFA/BCFA sous forme « acide », dans le cas d'une administration de ces molécules aux patients.

Certains essais cliniques basés sur l'utilisation du butyrate ont déjà montré un certain succès (Thibault *et al.*, 2007 ; Silva *et al.*, 2018 ; Vernero *et al.*, 2020). Les lavements au butyrate semblent notamment fournir un traitement efficace pour améliorer l'état de santé et accélérer le processus de guérison chez les patients atteints de RCH (Scheppach *et al.*, 1992 ; Vernia *et al.*, 1995 ; Scheppach *et al.*, 1997 ; Vernia *et al.*, 2003). Par exemple, ces lavements locaux diminuent l'inflammation du côlon chez des patients atteints de RCH et améliorent les symptômes histologiques et cliniques chez certains patients atteints de MICI qui n'avaient pas répondu à la corticothérapie (Scheppach *et al.*, 1992 ; Scheppach *et al.*, 1996). L'administration orale de butyrate est apparue également comme un complément thérapeutique efficace dans le maintien de la rémission chez les patients atteints de RCH (Vernia *et al.*, 2000 ; Vernero *et al.*, 2020) ainsi que dans la diminution de l'inflammation chez les patients atteints de la maladie de Crohn (Di Sabatino *et al.*, 2005). Fait intéressant, la co-administration orale ou rectale (lavement) de butyrate avec des anti-inflammatoires ou des immunosuppresseurs actuellement utilisés dans le traitement des MICI, notamment la mésalazine (Acide 5-aminosalicylique(5-ASA)) et la cortisone, présente une efficacité supérieure à celle des monothérapies par ces traitements chez les patients atteints de RCH active (Vernero *et al.*, 2020 ; Vernia *et al.*, 2003). Enfin, Facchin *et al.*, ont démontré que l'administration orale de butyrate microencapsulé augmentait le nombre des bactéries productrices de butyrate, qui à leur tour augmentaient la production endogène de butyrate, contribuant ainsi à l'homéostasie intestinale (Facchin *et al.*, 2020).

Cependant, certains facteurs pourraient diminuer l'efficacité du traitement par le butyrate. Par exemple, il a été démontré que l'inflammation de l'épithélium intestinal induisait une diminution de l'expression du transporteur MCT-1, responsable de transport du butyrate dans les cellules épithéliales coliques. En effet, dans la muqueuse intestinale des patients atteints de MICI, la diminution de l'expression de MCT-1, et donc de l'absorption du butyrate, est étroitement dépendante de l'intensité de l'inflammation colique, ce qui pourrait expliquer l'absence d'effet de butyrate dans certaines études cliniques (Hamer *et al.*, 2010 ; Kaczmarek *et al.*, 2020). Il s'avère que le butyrate n'est efficace que dans les formes légères à modérées de RH ou de MC où l'expression de MCT-1 serait suffisamment élevée pour assurer son transport dans l'épithélium (Thibault *et al.*, 2007). Cette diminution de MCT-1 ne devrait cependant pas affecter le passage des formes « acides » de BCFA/SCFA qui pourraient donc, malgré tout, conserver leur intérêt thérapeutique.

Le mode d'administration des BCFA reste un problème majeur dans l'utilisation potentielle de ces métabolites chez l'homme. Ces molécules sont très odorantes ce qui rend difficile leur absorption par voie orale, et la réalisation de lavements est techniquement contraignante pour les patients. Une des approches envisageables est l'utilisation de probiotiques produisant des BCFA. Ceux-ci pourraient coloniser le microbiote des patients atteints de MICI et fournir *in situ* des quantités importantes de BCFA. Il sera donc intéressant de cribler différentes espèces bactériennes productrices des BCFA afin d'identifier des candidats probiotiques potentiels capables de moduler la SUMOylation intestinale *in vivo* après ingestion. L'utilisation de bactéries génétiquement modifiées surexprimant les voies métaboliques de production des BCFA pourrait également présenter un intérêt (du moins pour la validation *in vivo* de nos approches car ce type de probiotique est difficilement applicable à l'homme d'un point de vue législatif). L'utilisation de gélules gastrorésistantes/entérosolubles ou d'autres moyens de délivrer ces métabolites directement au niveau colique est également envisageable. Ces différentes approches permettraient de garantir une biodisponibilité maximale des BCFA au niveau de la muqueuse intestinale des patients atteints de MICI, afin de limiter l'inflammation.

Un autre axe de développement thérapeutique utilisant nos résultats serait de cibler directement la SUMOylation des protéines des cellules intestinales en inhibant spécifiquement l'activité des SENP par des inhibiteurs chimiques. Il existe à l'heure actuelle différents inhibiteurs de SENP, comme des composés à base de peptides synthétiques, des inhibiteurs de petit poids moléculaire ou des composés naturels extraits de plantes. Ces composés sont difficilement applicables à l'heure actuelle en clinique en raison de leur faible spécificité.

L'identification de nouveaux inhibiteurs spécifiques constitueraient des candidats thérapeutiques intéressants (Kumar et Zhang, 2015 ; Tokarz *et al.*, 2021).

Deux études ont tenté de développer des approches ciblant la SUMOylation des protéines intestinales afin de lutter contre l'inflammation intestinale. La première approche consiste en un système de thérapie génique visant à augmenter la SUMOylation intestinale en augmentant l'expression de la SUMO E3 ligase PIAS1 (Yavvari *et al.*, 2019). Cette surexpression de PIAS1 atténue l'inflammation intestinale dans un modèle de colite induite par le DSS, en diminuant la sécrétion de diverses cytokines pro-inflammatoires comme le TNF-α ou l'IL8 (Yavvari *et al.*, 2019). Quant à la deuxième approche, l'induction de l'hyperSUMOylation a été réalisé par une invalidation génétique de la protéase SENP7 dans un modèle murin. Ces souris SENP7 KO montrent également une diminution de l'inflammation en réponse au DSS (Suhail *et al.*, 2019).

Pris ensemble, ces études indiquent que la machinerie de SUMOylation/déSUMOylation pourrait constituer une cible thérapeutique prometteuse pour le traitement de l'inflammation liée aux MICI. L'identification des voies de signalisation induites par les BCFA/SCFA et aboutissant à la SUMOylation de protéines de la chromatine, ainsi que la caractérisation des facteurs nucléaires SUMOylés, pourrait fournir de nouveaux candidats thérapeutiques potentiels pour « mimer » l'effet des BCFA/SCFA et diminuer l'inflammation intestinale.

- ***SUMOylation et autres pathologies***

SUMO et infections bactériennes

En parallèle de son rôle potentiel dans l'inflammation intestinale, la SUMOylation est impliquée dans diverses infections par des pathogènes de l'intestin (Ribet *et al.*, 2010 ; Fritah *et al.*, 2014 ; Verma *et al.*, 2015 ; Sidik *et al.*, 2015). Certaines bactéries entériques pathogènes bloquent la SUMOylation de protéines essentielles dans les cellules infectées en ciblant la machinerie de SUMOylation. La déSUMOylation qui en résulte favorise la survie et la réplication intracellulaire des bactéries. L'identification de métabolites produits par les bactéries commensales du microbiote antagonisant l'effet de ces pathogènes pourrait donc constituer un nouveau mécanisme de défense utilisé par le microbiote pour protéger son hôte.

SUMO et entérocolite nécrosante

L'impact potentiel de certains BCFA a été analysé dans un modèle d'entérocolite nécrosante (ECN) chez le rat. L'ECN est une maladie grave qui affecte l'intestin chez les prématurés et les nouveaux-nés (Ran-Ressler *et al.*, 2011). Les BCFA étudiés dans ce cadre possédaient une longue chaîne carbonée (d'au moins 14C ; Long-chain BCFA ou LC-BCFA). Les LC-BCFA sont naturellement présents au niveau de la peau, dans la membrane de certaines bactéries intestinales ou peuvent être directement apportés par l'alimentation (Toarmina *et al.*, 2020). En adéquation avec nos résultats sur les BCFA à courte chaine, les LC-BCFA diminuent l'expression de l'IL8 dans les cellules Caco-2. De plus, une supplémentation de l'alimentation avec un mélange de LC-BCFA diminue l'inflammation intestinale chez le rat et augmente l'expression de la cytokine anti-inflammatoire IL10 (Ran-Ressler *et al.*, 2011).

Nous pouvons faire l'hypothèse que si l'effet anti-inflammatoire des LC-BCFA dépend de leur forme « acide », il est probable que ces composés agissent en fait sur la SUMOylation des protéines intestinales, de manière identique à celle des BCFA. Il serait donc intéressant d'étudier l'effet de ces LC-BCFA sur la SUMOylation intestinale.

SUMO et inflammation des voies respiratoires

En dehors du contexte intestinal, une étude a d'autre part montré qu'un environnement faiblement acide (pH5.5) était capable d'inhiber les réponses inflammatoires induites par le LPS dans des cellules épithéliales des voies respiratoires (Hackett *et al.*, 2016). Encore une fois, cette modification du pH de l'environnement cellulaire pourrait avoir des répercussions sur la SUMOylation des cellules de l'épithélium respiratoire aboutissant à cette inhibition de l'inflammation.

SUMO et microbiote vaginal

Enfin, il a été démontré que des acides organiques comme l'acide lactique, produit cette fois-ci par les bactéries du microbiote vaginal, bloquent la réponse inflammatoire dans les cellules épithéliales cervico-vaginales humaines (Hearps *et al.*, 2017). Cette inhibition de l'inflammation n'est observée qu'à pH acide (pH<4) (Hearps *et al.*, 2017 ; Delgado-Diaz *et al.*, 2020).

Les propriétés anti-inflammatoires uniques de l'acide lactique contribuent de façon notable à l'effet protecteur du microbiote vaginal contre l'infection par le VIH (Hearps *et al.*, 2017 ; Delgado-Diaz *et al.*, 2020).

Nous pouvons faire comme hypothèse que l'acide lactique agit sur les cellules cervico-vaginales de façon identique aux BCFA sur les cellules intestinales, c'est-à-dire en induisant une hyperSUMOylation. Il serait donc intéressant d'étudier si l'acide lactique change le niveau de SUMOylation de protéines nucléaires dans les cellules épithéliales vaginales.

L'ensemble de ces résultats confortent notre hypothèse que les SCFA/BCFA produits par le microbiote (intestinal, vaginal mais aussi possiblement cutané ou respiratoire) pourrait réguler localement l'inflammation, et ceci au niveau de différents types de muqueuses, et renforcer l'effet de barrière des différents microbiotes de l'organisme contre les pathogènes.

Conclusion

Conclusion

Mes travaux de recherche de doctorat montrent pour la première fois que les bactéries commensales du microbiote intestinal, à l'instar des bactéries pathogènes, peuvent moduler la SUMOylation de nombreuses protéines intestinales et réguler leurs activités. Ces résultats mettent en lumière un nouveau type d'interaction hôte/microbiote, impliqué dans la régulation de la physiologie intestinale. Nous avons montré en particulier que l'hyperSUMOylation induite par les BCFA et les SCFA limitait la réponse inflammatoire des cellules intestinales, en bloquant la voie NF-κB. Ces travaux, réalisés majoritairement *in vitro*, devront maintenant être poursuivis *in vivo* en étudiant l'impact de ces métabolites sur la SUMOylation dans des modèles murins d'inflammation intestinale.

L'ensemble de ces résultats amèneront potentiellement à évaluer l'effet de ces BCFA dans le traitement de pathologies inflammatoires comme les MICI. En effet, une augmentation de la concentration en BCFA au niveau colique (*via* l'administration directe de ces métabolites ou l'utilisation de probiotiques) pourrait permettre de limiter l'apparition de poussées inflammatoires. Ces métabolites pourraient alors compléter l'arsenal thérapeutique actuellement utilisé dans le cadre des MICI et aider à répondre au problème de santé publique majeur posé par ces pathologies.

Références bibliographiques

Adak, Atanu, et Mojibur R. Khan. « An Insight into Gut Microbiota and Its Functionalities ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 76, nº 3 (février 2019): 473-93. https://doi.org/10.1007/s00018-018-2943-4.

Adorisio, Sabrina, Alessandra Fierabracci, Isabella Muscari, Anna Marina Liberati, Emira Ayroldi, Graziella Migliorati, Trinh Thi Thuy, Carlo Riccardi, et Domenico V. Delfino. « SUMO Proteins: Guardians of Immune System ». *Journal of Autoimmunity* 84 (novembre 2017): 21-28. https://doi.org/10.1016/j.jaut.2017.09.001.

Aguirre, Marisol, Anat Eck, Marjorie E. Koenen, Paul H. M. Savelkoul, Andries E. Budding, et Koen Venema. « Diet Drives Quick Changes in the Metabolic Activity and Composition of Human Gut Microbiota in a Validated in Vitro Gut Model ». *Research in Microbiology* 167, nº 2 (1 février 2016): 114-25. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.09.006.

Agus, Allison, Jérémy Denizot, Jonathan Thévenot, Margarita Martinez-Medina, Sébastien Massier, Pierre Sauvanet, Annick Bernalier-Donadille, *et al.* « Western diet induces a shift in microbiota composition enhancing susceptibility to Adherent-Invasive E. coli infection and intestinal inflammation. » *Scientific Reports* 6 (8 janvier 2016). https://doi.org/10.1038/srep19032.

Aillet, Fabienne, Fernando Lopitz-Otsoa, Isabel Egaña, Roland Hjerpe, Paul Fraser, Ron T. Hay, Manuel S. Rodriguez, et Valérie Lang. « Heterologous SUMO-2/3-Ubiquitin Chains Optimize IκBα Degradation and NF-KB Activity ». *PLOS ONE* 7, nº 12 (20 décembre 2012): e51672. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051672.

Al-Sadi, Rana, Shuhong Guo, Dongmei Ye, Manmeet Rawat, et Thomas Y. Ma. « TNF-α Modulation of Intestinal Tight Junction Permeability Is Mediated by NIK/IKK-α Axis Activation of the Canonical NF-KB Pathway ». *The American Journal of Pathology* 186, nº 5 (mai 2016): 1151-65. https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.12.016.

Ananthakrishnan, Ashwin N., Charles N. Bernstein, Dimitrios Iliopoulos, Andrew Macpherson, Markus F. Neurath, Raja A. Raja Ali, Stephan R. Vavricka, et Claudio Fiocchi. « Environmental Triggers in IBD: A Review of Progress and Evidence ». *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 15, nº 1 (janvier 2018): 39-49. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.136.

Andreu, Pauline, Christine Perret, et Béatrice Romagnolo. « Wnt et cellules souches intestinales : des liaisons dangereuses… ». *médecine/sciences* 22, nº 8-9 (août 2006): 693-95. https://doi.org/10.1051/medsci/20062289693.

Arenzana-Seisdedos, F., J. Thompson, M. S. Rodriguez, F. Bachelerie, D. Thomas, et R. T. Hay. « Inducible Nuclear Expression of Newly Synthesized I Kappa B Alpha Negatively Regulates DNA-Binding and Transcriptional Activities of NF-Kappa B ». *Molecular and Cellular Biology* 15, nº 5 (mai 1995): 2689-96. https://doi.org/10.1128/MCB.15.5.2689.

Arenzana-Seisdedos, F., P. Turpin, M. Rodriguez, D. Thomas, R. T. Hay, J. L. Virelizier, et C. Dargemont. « Nuclear Localization of I Kappa B Alpha Promotes Active Transport of NF-Kappa B from the Nucleus to the Cytoplasm ». *Journal of Cell Science* 110 (Pt 3) (février 1997): 369-78.

Arranz, Alicia, Christina Doxaki, Eleni Vergadi, Yeny Martinez de la Torre, Katerina Vaporidi, Eleni D. Lagoudaki, Eleftheria Ieronymaki, *et al.* « Akt1 and Akt2 Protein Kinases Differentially Contribute to Macrophage Polarization ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, nº 24 (12 juin 2012): 9517-22. https://doi.org/10.1073/pnas.1119038109.

Asarat, M., T. Vasiljevic, V. Apostolopoulos, et O. Donkor. « Short-Chain Fatty Acids Regulate Secretion of IL-8 from Human Intestinal Epithelial Cell Lines in Vitro ». *Immunological Investigations* 44, nº 7 (2015): 678-93. https://doi.org/10.3109/08820139.2015.1085389.

Avelar Rodriguez, David, Rubén Vélez, Erick Toro-Monjaraz, Jaime Mayans, et Paul Ryan. « The Gut Microbiota: A Clinically Impactful Factor in Patient Health and Disease ». *SN Comprehensive Clinical Medicine* 1 (1 mars 2019). https://doi.org/10.1007/s42399-018-0036-1.

Bäckhed, Fredrik, Josefine Roswall, Yangqing Peng, Qiang Feng, Huijue Jia, Petia Kovatcheva-Datchary, Yin Li, *et al.* « Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life ». *Cell Host & Microbe* 17, nº 5 (mai 2015): 690-703. https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.04.004.

Bäckhed, Fredrik, Hao Ding, Ting Wang, Lora V. Hooper, Gou Young Koh, Andras Nagy, Clay F. Semenkovich, et Jeffrey I. Gordon. « The Gut Microbiota as an Environmental Factor That Regulates Fat Storage ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, nº 44 (2 novembre 2004): 15718-23. https://doi.org/10.1073/pnas.0407076101.

Ballard, J. William O., et Samuel G. Towarnicki. « Mitochondria, the Gut Microbiome and ROS ». *Cellular Signalling* 75 (1 novembre 2020): 109737. https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2020.109737.

Barker, Nick, Meritxell Huch, Pekka Kujala, Marc van de Wetering, Hugo J. Snippert, Johan H. van Es, Toshiro Sato, *et al.* « Lgr5+ve Stem Cells Drive Self-Renewal in the Stomach and Build Long-Lived Gastric Units In Vitro ». *Cell Stem Cell* 6, nº 1 (8 janvier 2010): 25-36. https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.11.013.

Barnich, Nicolas, Jérôme Boudeau, Laurent Claret, et Arlette Darfeuille-Michaud. « Regulatory and Functional Co-Operation of Flagella and Type 1 Pili in Adhesive and Invasive Abilities of AIEC Strain LF82 Isolated from a Patient with Crohn's Disease ». *Molecular Microbiology* 48, nº 3 (mai 2003): 781-94. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03468.x.

Becker, Janina, Sina V. Barysch, Samir Karaca, Claudia Dittner, He-Hsuan Hsiao, Mauricio Berriel Diaz, Stephan Herzig, Henning Urlaub, et Frauke Melchior. « Detecting Endogenous SUMO Targets in Mammalian Cells and Tissues ». *Nature Structural & Molecular Biology* 20, nº 4 (avril 2013): 525-31. https://doi.org/10.1038/nsmb.2526.

Beek, Christina M. van der, Cornelis H. C. Dejong, Freddy J. Troost, Ad A. M. Masclee, et Kaatje Lenaerts. « Role of Short-Chain Fatty Acids in Colonic Inflammation, Carcinogenesis, and Mucosal Protection and Healing ». *Nutrition Reviews* 75, nº 4 (1 avril 2017): 286-305. https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw067.

Bellono, Nicholas W., James R. Bayrer, Duncan B. Leitch, Joel Castro, Chuchu Zhang, Tracey A. O'Donnell, Stuart M. Brierley, Holly A. Ingraham, et David Julius. « Enterochromaffin Cells Are Gut Chemosensors That Couple to Sensory Neural Pathways ». *Cell* 170, nº 1 (29 juin 2017): 185-198.e16. https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.034.

Bernier-Villamor, Victor, Deborah A. Sampson, Michael J. Matunis, et Christopher D. Lima. « Structural Basis for E2-Mediated SUMO Conjugation Revealed by a Complex between Ubiquitin-Conjugating Enzyme Ubc9 and RanGAP1 ». *Cell* 108, nº 3 (2002): 345-56. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00630-X.

Bhutia, Yangzom D., et Vadivel Ganapathy. « Short, but Smart: SCFAs Train T Cells in the Gut to Fight Autoimmunity in the Brain ». *Immunity* 43, nº 4 (20 octobre 2015): 629-31. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.09.014.

Bhutia YD, Ganapathy V. Short, but smart: SCFAs train T cells in the gut to fight autoimmunity in the brain. Immunity. 2015;43(4):629–31. - Recherche Google ». Consulté le 12 mai 2021.

Blachier F, Beaumont M, Andriamihaja M, Davila AM, Lan A, Grauso M, Armand L, Benamouzig R, Tomé D. Changes in the Luminal Environment of the Colonic Epithelial Cells and Physiopathological Consequences. Am J Pathol. 2017 Mar;187(3):476-486. doi: 10.1016/j.ajpath.2016.11.015. Epub 2017 Jan 9. PMID: 28082121. - Recherche Google ». Consulté le 5 juin 2021.

Blachier, F., F. Mariotti, J. F. Huneau, et D. Tomé. « Effects of Amino Acid-Derived Luminal Metabolites on the Colonic Epithelium and Physiopathological Consequences ». *Amino Acids* 33, nº 4 (novembre 2007): 547-62. https://doi.org/10.1007/s00726-006-0477-9.

Boddy, M. N., K. Howe, L. D. Etkin, E. Solomon, et P. S. Freemont. « PIC 1, a Novel Ubiquitin-like Protein Which Interacts with the PML Component of a Multiprotein Complex That Is Disrupted in Acute Promyelocytic Leukaemia ». *Oncogene* 13, nº 5 (5 septembre 1996): 971-82.

Bohren, Kurt M., Varsha Nadkarni, Jian H. Song, Kenneth H. Gabbay, et David Owerbach. « A M55V Polymorphism in a Novel SUMO Gene (SUMO-4) Differentially Activates Heat Shock Transcription Factors and Is Associated with Susceptibility to Type I Diabetes Mellitus ». *Journal of Biological Chemistry* 279, nº 26 (juin 2004): 27233-38. https://doi.org/10.1074/jbc.M402273200.

Bossis, Guillaume, et Frauke Melchior. « Regulation of SUMOylation by Reversible Oxidation of SUMO Conjugating Enzymes ». *Molecular Cell* 21, nº 3 (3 février 2006): 349-57. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.12.019.

Bossis, Guillaume, Jean-Emmanuel Sarry, Chamseddine Kifagi, Marko Ristic, Estelle Saland, François Vergez, Tamara Salem, *et al.* « The ROS/SUMO Axis Contributes to the Response of Acute Myeloid Leukemia Cells to Chemotherapeutic Drugs ». *Cell Reports* 7, nº 6 (juin 2014): 1815-23. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.05.016.

Boulanger, Mathias, Mehuli Chakraborty, Denis Tempé, Marc Piechaczyk, et Guillaume Bossis. « SUMO and Transcriptional Regulation: The Lessons of Large-Scale Proteomic, Modifomic and Genomic Studies ». *Molecules* 26, nº 4 (5 février 2021). https://doi.org/10.3390/molecules26040828.

Breton, Jonathan, Pierre Déchelotte, et David Ribet. « Intestinal Microbiota and Anorexia Nervosa ». *Clinical Nutrition Experimental* 28 (1 décembre 2019): 11-21. https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2019.05.001.

Breuer, R. I., K. H. Soergel, B. A. Lashner, M. L. Christ, S. B. Hanauer, A. Vanagunas, J. M. Harig, *et al.* « Short Chain Fatty Acid Rectal Irrigation for Left-Sided Ulcerative Colitis: A Randomised, Placebo Controlled Trial ». *Gut* 40, nº 4 (avril 1997): 485-91. https://doi.org/10.1136/gut.40.4.485.

Buchon, Nicolas, Nichole A. Broderick, Mickael Poidevin, Sylvain Pradervand, et Bruno Lemaitre. « Drosophila Intestinal Response to Bacterial Infection: Activation of Host Defense and Stem Cell Proliferation ». *Cell Host & Microbe* 5, nº 2 (19 février 2009): 200-211. https://doi.org/10.1016/j.chom.2009.01.003.

Cani, Patrice D. « Gut Microbiota - at the Intersection of Everything? » *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology* 14, nº 6 (juin 2017): 321-22. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.54.

Cao, Yuan, Jun Shen, et Zhi Hua Ran. « Association between Faecalibacterium Prausnitzii Reduction and Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis and Systematic Review of the Literature ». *Gastroenterology Research and Practice* 2014 (2014): 872725. https://doi.org/10.1155/2014/872725.

Catalan-Serra, Ignacio, Arne Kristian Sandvik, Torunn Bruland, et Juan Carlos Andreu-Ballester. « Gammadelta T Cells in Crohn's Disease: A New Player in the Disease Pathogenesis? » *Journal of Crohn's and Colitis* 11, nº 9 (1 septembre 2017): 1135-45. https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjx039.

Celen, Arda B., et Umut Sahin. « Sumoylation on its 25th Anniversary: Mechanisms, Pathology and Emerging Concepts. » *The FEBS journal*, 2020. https://doi.org/10.1111/febs.15319.

Chang, Hui-Ming, et Edward T. H. Yeh. « SUMO: From Bench to Bedside ». *Physiological Reviews* 100, nº 4 (1 octobre 2020): 1599-1619. https://doi.org/10.1152/physrev.00025.2019.

Charney, A. N., L. Micic, et R. W. Egnor. « Nonionic Diffusion of Short-Chain Fatty Acids across Rat Colon ». *The American Journal of Physiology* 274, nº 3 (mars 1998): G518-524. https://doi.org/10.1152/ajpgi.1998.274.3.G518.

Chassaing, Benoit, et Arlette Darfeuille–Michaud. « The Commensal Microbiota and Enteropathogens in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases ». *Gastroenterology* 140, nº 6 (1 mai 2011): 1720-1728.e3. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.054.

Chen, Qian, Yiping Ren, Jihong Lu, Mark Bartlett, Lei Chen, Yan Zhang, Xiaokui Guo, et Chang Liu. « A Novel Prebiotic Blend Product Prevents Irritable Bowel Syndrome in Mice by Improving Gut Microbiota and Modulating Immune Response ». *Nutrients* 9, nº 12 (9 décembre 2017). https://doi.org/10.3390/nu9121341.

Chen, Shi-Feng, Chang Gong, Ming Luo, He-Rui Yao, Yun-Jie Zeng, et Feng-Xi Su. « Ubc9 expression predicts chemoresistance in breast cancer ». *Chinese Journal of Cancer* 30, nº 9 (septembre 2011): 638-44. https://doi.org/10.5732/cjc.011.10084.

Cheng, Jing, Airi M. Palva, Willem M. de Vos, et Reetta Satokari. « Contribution of the Intestinal Microbiota to Human Health: From Birth to 100 Years of Age ». In *Between Pathogenicity and Commensalism*, édité par Ulrich Dobrindt, Jörg H. Hacker, et Catharina Svanborg, 323-46. Current Topics in Microbiology and Immunology. Berlin, Heidelberg: Springer, 2013. https://doi.org/10.1007/82_2011_189.

Chu, S, et M H Montrose. « Extracellular pH regulation in microdomains of colonic crypts: effects of short-chain fatty acids. » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, nº 8 (11 avril 1995): 3303-7.

Clemente, Jose C., Luke K. Ursell, Laura Wegener Parfrey, et Rob Knight. « The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View ». *Cell* 148, nº 6 (16 mars 2012): 1258-70. https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.035.

Collier-Hyams, Lauren S., Valerie Sloane, Brigid C. Batten, et Andrew S. Neish. « Cutting Edge: Bacterial Modulation of Epithelial Signaling *via* Changes in Neddylation of Cullin-1 ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 175, nº 7 (1 octobre 2005): 4194-98. https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.7.4194.

Colman, Ruben J., et David T. Rubin. « Fecal Microbiota Transplantation as Therapy for Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *Journal of Crohn's & colitis* 8, nº 12 (1 décembre 2014): 1569-81. https://doi.org/10.1016/j.crohns.2014.08.006.

Conibear, Anne C. « Deciphering Protein Post-Translational Modifications Using Chemical Biology Tools ». *Nature Reviews Chemistry* 4, nº 12 (décembre 2020): 674-95. https://doi.org/10.1038/s41570-020-00223-8.

Cope, Gregory A., et Raymond J. Deshaies. « COP9 Signalosome: A Multifunctional Regulator of SCF and Other Cullin-Based Ubiquitin Ligases ». *Cell* 114, nº 6 (19 septembre 2003): 663-71. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00722-0.

Corn, Jacob E, et Domagoj Vucic. « Ubiquitin in Inflammation: The Right Linkage Makes All the Difference ». *Nature Structural & Molecular Biology* 21, nº 4 (avril 2014): 297-300. https://doi.org/10.1038/nsmb.2808.

Cosnes, Jacques, Stéphane Cattan, Antoine Blain, Laurent Beaugerie, Franck Carbonnel, Rolland Parc, et Jean-Pierre Gendre. « Long-Term Evolution of Disease Behavior of Crohn's Disease ». *Inflammatory Bowel Diseases* 8, nº 4 (2002): 244-50. https://doi.org/10.1097/00054725-200207000-00002.

Cotran, Ramzi S, Vinay Kumar, Tucker Collins, et Stanley L Robbins. *Robbins Pathologic Basis of Disease.* Philadelphia: Saunders, 1999.

Culver, Carolyn, Anders Sundqvist, Sharon Mudie, Andrew Melvin, Dimitris Xirodimas, et Sonia Rocha. « Mechanism of Hypoxia-Induced NF-KappaB ». *Molecular and Cellular Biology* 30, nº 20 (octobre 2010): 4901-21. https://doi.org/10.1128/MCB.00409-10.

Czepiel, Jacek, Mirosław Dróżdż, Hanna Pituch, Ed J. Kuijper, William Perucki, Aleksandra Mielimonka, Sarah Goldman, Dorota Wultańska, Aleksander Garlicki, et Grażyna Biesiada. « Clostridium difficile infection: review ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 38, nº 7 (2019): 1211-21. https://doi.org/10.1007/s10096-019-03539-6.

Dalmasso, Guillaume, Antony Cougnoux, Julien Delmas, Arlette Darfeuille-Michaud, et Richard Bonnet. « The bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumor growth by modifying the tumor microenvironment ». *Gut Microbes* 5, nº 5 (30 octobre 2014): 675-80. https://doi.org/10.4161/19490976.2014.969989.

Dalmasso, Guillaume, Hang T. T. Nguyen, Tiphanie Faïs, Sébastien Massier, Nicolas Barnich, Julien Delmas, et Richard Bonnet. « Crohn's Disease-Associated Adherent-Invasive Escherichia coli Manipulate Host Autophagy by Impairing SUMOylation ». *Cells* 8, nº 1 (9 janvier 2019). https://doi.org/10.3390/cells8010035.

Dantuma, Nico P., et Haico van Attikum. « Spatiotemporal Regulation of Posttranslational Modifications in the DNA Damage Response ». *The EMBO Journal* 35, nº 1 (4 janvier 2016): 6-23. https://doi.org/10.15252/embj.201592595.

De, Cressman, et Taub R. « I Kappa B Alpha Can Localize in the Nucleus but Shows No Direct Transactivation Potential. » *Oncogene* 8, nº 9 (1 septembre 1993): 2567-73.

Decque, Adrien, Olivier Joffre, Joao G. Magalhaes, Jack-Christophe Cossec, Ronnie Blecher-Gonen, Pierre Lapaquette, Aymeric Silvin, *et al.* « Sumoylation Coordinates the Repression of Inflammatory and Anti-Viral Gene-Expression Programs during Innate Sensing ». *Nature Immunology* 17, nº 2 (février 2016): 140-49. https://doi.org/10.1038/ni.3342.

Degnan, Patrick H., Natasha A. Barry, Kenny C. Mok, Michiko E. Taga, et Andrew L. Goodman. « Human Gut Microbes Use Multiple Transporters to Distinguish Vitamin B_{12} Analogs and Compete in the Gut ». *Cell Host & Microbe* 15, nº 1 (15 janvier 2014): 47-57. https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.12.007.

DeGruttola, Arianna K., Daren Low, Atsushi Mizoguchi, et Emiko Mizoguchi. « Current Understanding of Dysbiosis in Disease in Human and Animal Models ». *Inflammatory Bowel Diseases* 22, nº 5 (mai 2016): 1137-50. https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000750.

Delgado-Diaz, David J., David Tyssen, Joshua A. Hayward, Raffi Gugasyan, Anna C. Hearps, et Gilda Tachedjian. « Distinct Immune Responses Elicited From Cervicovaginal Epithelial Cells by Lactic Acid and Short Chain Fatty Acids Associated With Optimal and Non-Optimal Vaginal Microbiota ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 9 (2019): 446. https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00446.

Demarque, Maud D., Karim Nacerddine, Hélène Neyret–Kahn, Alexandra Andrieux, Esther Danenberg, Grégory Jouvion, Perrine Bomme, *et al.* « Sumoylation by Ubc9 Regulates the Stem Cell Compartment and Structure and Function of the Intestinal Epithelium in Mice ». *Gastroenterology* 140, n° 1 (janvier 2011): 286-96. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.10.002.

Desoignie, Roland, et Joseph H. Sellin. « Propionate-Initiated Changes in Intracellular PH in Rabbit Colonocytes ». *Gastroenterology* 107, n° 2 (1 août 1994): 347-56. https://doi.org/10.5555/uri:pii:0016508594901589.

Desterro, Joana M.P., Manuel S. Rodriguez, Graham D. Kemp, et Ronald T. Hay. « Identification of the Enzyme Required for Activation of the Small Ubiquitin-like Protein SUMO-1 ». *Journal of Biological Chemistry* 274, n° 15 (avril 1999): 10618-24. https://doi.org/10.1074/jbc.274.15.10618.

Di Sabatino, A., R. Morera, R. Ciccocioppo, P. Cazzola, S. Gotti, F. P. Tinozzi, S. Tinozzi, et G. R. Corazza. « Oral Butyrate for Mildly to Moderately Active Crohn's Disease ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 22, n° 9 (1 novembre 2005): 789-94. https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02639.x.

Diener, M., et E. Scharrer. « The Effect of Short-Chain Fatty Acids on Cl− and K+ Conductance in Rat Colonic Crypts ». *Pflügers Archiv* 426, n° 6 (1 avril 1994): 472-80. https://doi.org/10.1007/BF00378524.

Dodd, Dylan, Matthew H. Spitzer, William Van Treuren, Bryan D. Merrill, Andrew J. Hryckowian, Steven K. Higginbottom, Anthony Le, *et al.* « A Gut Bacterial Pathway Metabolizes Aromatic Amino Acids into Nine Circulating Metabolites ». *Nature* 551, n° 7682 (30 novembre 2017): 648-52. https://doi.org/10.1038/nature24661.

Duncan, Sylvia H., Alvaro Belenguer, Grietje Holtrop, Alexandra M. Johnstone, Harry J. Flint, et Gerald E. Lobley. « Reduced Dietary Intake of Carbohydrates by Obese Subjects Results in Decreased Concentrations of Butyrate and Butyrate-Producing Bacteria in Feces ». *Applied and Environmental Microbiology* 73, n° 4 (février 2007): 1073-78. https://doi.org/10.1128/AEM.02340-06.

Enchev, Radoslav I., Brenda A. Schulman, et Matthias Peter. « Protein Neddylation: Beyond Cullin–RING Ligases ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 16, n° 1 (janvier 2015): 30-44. https://doi.org/10.1038/nrm3919.

Enserink, Jorrit M. « Sumo and the cellular stress response ». *Cell Division* 10 (20 juin 2015). https://doi.org/10.1186/s13008-015-0010-1.

Erker, Yigit, Helene Neyret-Kahn, Jacob S. Seeler, Anne Dejean, Azeddine Atfi, et Laurence Levy. « Arkadia, a Novel SUMO-Targeted Ubiquitin Ligase Involved in PML Degradation ». *Molecular and Cellular Biology* 33, n° 11 (juin 2013): 2163-77. https://doi.org/10.1128/MCB.01019-12.

Facchin, Sonia, Nicola Vitulo, Matteo Calgaro, Andrea Buda, Chiara Romualdi, Daniel Pohl, Barbara Perini, *et al.* « Microbiota Changes Induced by Microencapsulated Sodium Butyrate in Patients with Inflammatory Bowel Disease ». *Neurogastroenterology and Motility: The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 32, n° 10 (octobre 2020): e13914. https://doi.org/10.1111/nmo.13914.

Fallingborg, J., L. A. Christensen, M. Ingeman-Nielsen, B. A. Jacobsen, K. Abildgaard, et H. H. Rasmussen. « PH-Profile and Regional Transit Times of the Normal Gut Measured by a Radiotelemetry Device ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 3, n° 6 (décembre 1989): 605-13. https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.1989.tb00254.x.

Fedoseeva, Irina V., Darya V. Pyatrikas, Alexei V. Stepanov, Anna V. Fedyaeva, Nina N. Varakina, Tatyana M. Rusaleva, Gennadii B. Borovskii, et Eugene G. Rikhvanov. « The Role of Flavin-Containing Enzymes in Mitochondrial Membrane Hyperpolarization and ROS Production in Respiring Saccharomyces Cerevisiae Cells under Heat-Shock Conditions ». *Scientific Reports* 7, nº 1 (31 mai 2017): 2586. https://doi.org/10.1038/s41598-017-02736-7.

Flier, Laurens G. van der, et Hans Clevers. « Stem Cells, Self-Renewal, and Differentiation in the Intestinal Epithelium ». *Annual Review of Physiology* 71, nº 1 (2009): 241-60. https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.010908.163145.

Flotho, Annette, et Frauke Melchior. « Sumoylation: A Regulatory Protein Modification in Health and Disease ». *Annual Review of Biochemistry* 82, nº 1 (2 juin 2013): 357-85. https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061909-093311.

François, Isabelle E. J. A., Olivier Lescroart, Wim S. Veraverbeke, Massimo Marzorati, Sam Possemiers, Henrike Hamer, Karen Windey, *et al.* « Effects of Wheat Bran Extract Containing Arabinoxylan Oligosaccharides on Gastrointestinal Parameters in Healthy Preadolescent Children ». *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 58, nº 5 (mai 2014): 647-53. https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000285.

French, Michael E., Julian L. Klosowiak, Aaron Aslanian, Steven I. Reed, John R. Yates, et Tony Hunter. « Mechanism of Ubiquitin Chain Synthesis Employed by a HECT Domain Ubiquitin Ligase ». The Journal of Biological Chemistry 292, no 25 (23 juin 2017): 10398-413. https://doi.org/10.1074/jbc.M117.789479.

Fritah, Sabrina, Nouara Lhocine, Filip Golebiowski, Joëlle Mounier, Alexandra Andrieux, Grégory Jouvion, Ronald T Hay, Philippe Sansonetti, et Anne Dejean. « Sumoylation controls host anti-bacterial response to the gut invasive pathogen Shigella flexneri ». *EMBO Reports* 15, nº 9 (septembre 2014): 965-72. https://doi.org/10.15252/embr.201338386.

Furusawa, Yukihiro, Yuuki Obata, Shinji Fukuda, Takaho A. Endo, Gaku Nakato, Daisuke Takahashi, Yumiko Nakanishi, *et al.* « Commensal Microbe-Derived Butyrate Induces the Differentiation of Colonic Regulatory T Cells ». *Nature* 504, nº 7480 (19 décembre 2013): 446-50. https://doi.org/10.1038/nature12721.

Gareau, Jaclyn R., et Christopher D. Lima. « The SUMO pathway: emerging mechanisms that shape specificity, conjugation and recognition ». *Nature reviews. Molecular cell biology* 11, nº 12 (décembre 2010): 861-71. https://doi.org/10.1038/nrm3011.

Garvin, Alexander J., Ruth M. Densham, Sarah A. Blair-Reid, Kenny M. Pratt, Helen R. Stone, Daniel Weekes, Kirsty J. Lawrence, et Joanna R. Morris. « The DeSUMOylase SENP7 Promotes Chromatin Relaxation for Homologous Recombination DNA Repair ». *EMBO Reports* 14, nº 11 (novembre 2013): 975-83. https://doi.org/10.1038/embor.2013.141.

Gasaly, Naschla, Marcela A. Hermoso, et Martín Gotteland. « Butyrate and the Fine-Tuning of Colonic Homeostasis: Implication for Inflammatory Bowel Diseases ». *International Journal of Molecular Sciences* 22, nº 6 (17 mars 2021). https://doi.org/10.3390/ijms22063061.

Gâtel, Pierre, Marc Piechaczyk, et Guillaume Bossis. « Ubiquitin, SUMO, and Nedd8 as Therapeutic Targets in Cancer ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1233 (2020): 29-54. https://doi.org/10.1007/978-3-030-38266-7_2.

Geiss-Friedlander, Ruth, et Frauke Melchior. « Concepts in Sumoylation: A Decade On ». *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 8, nº 12 (décembre 2007): 947-56. https://doi.org/10.1038/nrm2293.

Geng, Jiefei, et Daniel J. Klionsky. « The Atg8 and Atg12 ubiquitin-like conjugation systems in macroautophagy ». *EMBO reports* 9, nº 9 (1 septembre 2008): 859-64. https://doi.org/10.1038/embor.2008.163.

Gérard, Philippe, et Annick Bernalier-Donadille. « Les fonctions majeures du microbiote intestinal ». *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 42 (1 avril 2007): 28-36. https://doi.org/10.1016/S0007-9960(07)91318-8.

Gibson, P R. « Increased gut permeability in Crohn's disease: is TNF the link? » *Gut* 53, nº 12 (décembre 2004): 1724-25. https://doi.org/10.1136/gut.2004.047092.

Gill, Grace. « SUMO and Ubiquitin in the Nucleus: Different Functions, Similar Mechanisms? » *Genes & Development* 18, nº 17 (1 septembre 2004): 2046-59. https://doi.org/10.1101/gad.1214604.

Girdwood, David, Donna Bumpass, Owen A Vaughan, Alison Thain, Lisa A Anderson, Andrew W Snowden, Elisa Garcia-Wilson, Neil D Perkins, et Ronald T Hay. « P300 Transcriptional Repression Is Mediated by SUMO Modification ». *Molecular Cell* 11, nº 4 (avril 2003): 1043-54. https://doi.org/10.1016/S1097-2765(03)00141-2.

Golebiowski, F., I. Matic, M. H. Tatham, C. Cole, Y. Yin, A. Nakamura, J. Cox, G. J. Barton, M. Mann, et R. T. Hay. « System-Wide Changes to SUMO Modifications in Response to Heat Shock ». *Science Signaling* 2, nº 72 (26 mai 2009): ra24-ra24. https://doi.org/10.1126/scisignal.2000282.

Guo, Chun-Jun, Breanna M. Allen, Kamir J. Hiam, Dylan Dodd, Will Van Treuren, Steven Higginbottom, Kazuki Nagashima, *et al.* « Depletion of Microbiome-Derived Molecules in the Host Using Clostridium Genetics ». *Science (New York, N.Y.)* 366, nº 6471 (13 décembre 2019). https://doi.org/10.1126/science.aav1282.

Guo, Dehuang, Manyu Li, Yan Zhang, Ping Yang, Sarah Eckenrode, Diane Hopkins, Weipeng Zheng, *et al.* « A Functional Variant of SUMO4, a New I Kappa B Alpha Modifier, Is Associated with Type 1 Diabetes ». *Nature Genetics* 36, nº 8 (août 2004): 837-41. https://doi.org/10.1038/ng1391.

Gupta Manish K., McLendon Patrick M., Gulick James, James Jeanne, Khalili Kamel, et Robbins Jeffrey. « UBC9-Mediated Sumoylation Favorably Impacts Cardiac Function in Compromised Hearts ». *Circulation Research* 118, nº 12 (10 juin 2016): 1894-1905. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.308268.

Hackett, A. P., R. E. Trinick, K. Rose, B. F. Flanagan, et P. S. McNamara. « Weakly Acidic PH Reduces Inflammatory Cytokine Expression in Airway Epithelial Cells ». *Respiratory Research* 17, nº 1 (15 juillet 2016): 82. https://doi.org/10.1186/s12931-016-0399-3.

Hald, Stine, Anne Grethe Schioldan, Mary E. Moore, Anders Dige, Helle Nygaard Lærke, Jørgen Agnholt, Knud Erik Bach Knudsen, *et al.* « Effects of Arabinoxylan and Resistant Starch on Intestinal Microbiota and Short-Chain Fatty Acids in Subjects with Metabolic Syndrome: A Randomised Crossover Study ». *PloS One* 11, nº 7 (2016): e0159223. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159223.

Hallert, Claes, Inger Björck, Margareta Nyman, Anneli Pousette, Christer Grännö, et Hans Svensson. « Increasing Fecal Butyrate in Ulcerative Colitis Patients by Diet: Controlled Pilot Study ». *Inflammatory Bowel Diseases* 9, nº 2 (mars 2003): 116-21. https://doi.org/10.1097/00054725-200303000-00005.

Hamer, H. M., D. Jonkers, K. Venema, S. Vanhoutvin, F. J. Troost, et R.-J. Brummer. « Review Article: The Role of Butyrate on Colonic Function ». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 27, nº 2 (15 janvier 2008): 104-19. https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03562.x.

Hamer, Henrike M., Daisy M. A. E. Jonkers, Steven A. L. W. Vanhoutvin, Freddy J. Troost, Ger Rijkers, Adriaan de Bruïne, Aalt Bast, Koen Venema, et Robert-Jan M. Brummer. « Effect of Butyrate Enemas on Inflammation and Antioxidant Status in the Colonic Mucosa of Patients with Ulcerative Colitis in Remission ». *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)* 29, nº 6 (décembre 2010): 738-44. https://doi.org/10.1016/j.clnu.2010.04.002.

Han, Zhi-Jian, Yan-Hu Feng, Bao-Hong Gu, Yu-Min Li, et Hao Chen. « The post-translational modification, SUMOylation, and cancer (Review) ». *International Journal of Oncology* 52, nº 4 (22 février 2018): 1081-94. https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4280.

Hannoun, Zara, Sebastian Greenhough, Ellis Jaffray, Ronald T. Hay, et David C. Hay. « Post-Translational Modification by SUMO ». *Toxicology* 278, nº 3 (décembre 2010): 288-93. https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.07.013.

Hattersley, Neil, Linnan Shen, Ellis G. Jaffray, et Ronald T. Hay. « The SUMO protease SENP6 is a direct regulator of PML nuclear bodies ». *Molecular Biology of the Cell* 22, nº 1 (1 janvier 2011): 78-90. https://doi.org/10.1091/mbc.E10-06-0504.

Hay, Ronald T. « Modifiying NEMO ». *Nature Cell Biology* 6, nº 2 (février 2004): 89-91.

Hearps, A. C., D. Tyssen, D. Srbinovski, L. Bayigga, D. J. D. Diaz, M. Aldunate, R. A. Cone, R. Gugasyan, D. J. Anderson, et G. Tachedjian. « Vaginal Lactic Acid Elicits an Anti-Inflammatory Response from Human Cervicovaginal Epithelial Cells and Inhibits Production of pro-Inflammatory Mediators Associated with HIV Acquisition ». *Mucosal Immunology* 10, nº 6 (novembre 2017): 1480-90. https://doi.org/10.1038/mi.2017.27.

Hee, Bart van der, et Jerry M. Wells. « Microbial Regulation of Host Physiology by Short-chain Fatty Acids ». *Trends in Microbiology*, 2021. https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.02.001.

Heimann, Emilia, Margareta Nyman, Ann-Ki Pålbrink, Karin Lindkvist-Petersson, et Eva Degerman. « Branched short-chain fatty acids modulate glucose and lipid metabolism in primary adipocytes ». *Adipocyte* 5, nº 4 (28 octobre 2016): 359-68. https://doi.org/10.1080/21623945.2016.1252011.

Hendriks, Ivo A., et Alfred C. O. Vertegaal. « A Comprehensive Compilation of SUMO Proteomics ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 17, nº 9 (septembre 2016): 581-95. https://doi.org/10.1038/nrm.2016.81.

Herrmann, Joerg, Lilach O. Lerman, et Amir Lerman. « Ubiquitin and Ubiquitin-like Proteins in Protein Regulation ». *Circulation Research* 100, nº 9 (11 mai 2007): 1276-91. https://doi.org/10.1161/01.RES.0000264500.11888.f0.

Hickey, Christopher M., Nicole R. Wilson, et Mark Hochstrasser. « Function and Regulation of SUMO Proteases ». *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 13, nº 12 (décembre 2012): 755-66. https://doi.org/10.1038/nrm3478.

Hidalgo, I. J., T. J. Raub, et R. T. Borchardt. « Characterization of the Human Colon Carcinoma Cell Line (Caco-2) as a Model System for Intestinal Epithelial Permeability ». *Gastroenterology* 96, nº 3 (mars 1989): 736-49.

Hochstrasser, Mark. « Origin and Function of Ubiquitin-like Protein Conjugation ». *Nature* 458, nº 7237 (26 mars 2009): 422. https://doi.org/10.1038/nature07958.

Hochstrasser, Mark. « Ubiquitin Signalling: What's in a Chain? » *Nature Cell Biology* 6, nº 7 (juillet 2004): 571-72. https://doi.org/10.1038/ncb0704-571.

Holmes, Zachary C., Justin D. Silverman, Holly K. Dressman, Zhengzheng Wei, Eric P. Dallow, Sarah C. Armstrong, Patrick C. Seed, John F. Rawls, et Lawrence A. David. « Short-Chain Fatty Acid Production by Gut Microbiota from Children with Obesity Differs According to Prebiotic Choice and Bacterial Community Composition ». *MBio* 11, nº 4 (11 août 2020). https://doi.org/10.1128/mBio.00914-20.

Hrdinka, Matous, et Mads Gyrd-Hansen. « The Met1-Linked Ubiquitin Machinery: Emerging Themes of (De)Regulation ». *Molecular Cell* 68, nº 2 (octobre 2017): 265-80. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.09.001.

Hung, Tran Van, et Takuya Suzuki. « Short-Chain Fatty Acids Suppress Inflammatory Reactions in Caco-2 Cells and Mouse Colons ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66, nº 1 (10 janvier 2018): 108-17. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04233.

Huang, Chao, Yan Han, Yumei Wang, Xuxu Sun, Shan Yan, Edward T. H. Yeh, Yuying Chen, *et al.* « SENP3 Is Responsible for HIF-1 Transactivation under Mild Oxidative Stress *via* P300 de-SUMOylation ». *The EMBO Journal* 28, nº 18 (16 septembre 2009): 2748-62. https://doi.org/10.1038/emboj.2009.210.

Huda-Faujan, N., A. S. Abdulamir, A. B. Fatimah, O. Muhammad Anas, M. Shuhaimi, A. M. Yazid, et Y. Y. Loong. « The Impact of the Level of the Intestinal Short Chain Fatty Acids in Inflammatory Bowel Disease Patients versus Healthy Subjects ». *The Open Biochemistry Journal* 4 (13 mai 2010): 53-58. https://doi.org/10.2174/1874091X01004010053.

Impens, Francis, Lilliana Radoshevich, Pascale Cossart, et David Ribet. « Mapping of SUMO Sites and Analysis of SUMOylation Changes Induced by External Stimuli ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111, nº 34 (26 août 2014): 12432-37. https://doi.org/10.1073/pnas.1413825111.

Jandhyala, Sai Manasa, Rupjyoti Talukdar, Chivkula Subramanyam, Harish Vuyyuru, Mitnala Sasikala, et D Nageshwar Reddy. « Role of the normal gut microbiota ». *World Journal of Gastroenterology : WJG* 21, nº 29 (7 août 2015): 8787-8803. https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787.

Jaskiewicz, J., Y. Zhao, J. W. Hawes, Y. Shimomura, D. W. Crabb, et R. A. Harris. « Catabolism of Isobutyrate by Colonocytes ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 327, nº 2 (15 mars 1996): 265-70. https://doi.org/10.1006/abbi.1996.0120.

Jd, Kessler, Kahle Kt, Sun T, Meerbrey Kl, Schlabach Mr, Schmitt Em, Skinner So, *et al.* « A SUMOylation-Dependent Transcriptional Subprogram Is Required for Myc-Driven Tumorigenesis. » *Science (New York, N.Y.)* 335, nº 6066 (8 décembre 2011): 348-53. https://doi.org/10.1126/science.1212728.

Jones, R. M., J. W. Mercante, et A. S. Neish. « Reactive Oxygen Production Induced by the Gut Microbiota: Pharmacotherapeutic Implications ». *Current Medicinal Chemistry* 19, nº 10 (2012): 1519-29. https://doi.org/10.2174/092986712799828283.

Kaczmarek, Nina, Marta Kokot, Aleksandra Makarewicz, Aleksandra Glapa-Nowak, Jan K. Nowak, Małgorzata Jamka, et Jarosław Walkowiak. « The Therapeutic Potential of Short-Chain Fatty Acids Enemas in Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review ». *Farmacja Polska* 76, nº 5 (2020): 297-304. https://doi.org/10.32383/farmpol/125114.

Kagey, Michael H., Tiffany A. Melhuish, et David Wotton. « The Polycomb Protein Pc2 Is a SUMO E3 ». *Cell* 113, nº 1 (4 avril 2003): 127-37. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00159-4.

Karhausen, Jörn, Joshua D. Bernstock, Kory R. Johnson, Huaxin Sheng, Qing Ma, Yuntian Shen, Wei Yang, John M. Hallenbeck, et Wulf Paschen. « Ubc9 Overexpression and SUMO1 Deficiency Blunt Inflammation after Intestinal Ischemia/Reperfusion ». *Laboratory Investigation* 98, nº 6 (juin 2018): 799-813. https://doi.org/10.1038/s41374-018-0035-6.

Khalili, Ali, Soheil Ebrahimpour, Iradj Maleki, Saeid Abediankenari, et Mousa Mohammadnia Afrouzi. « CD4+CD25+CD127low FoxP3+ Regulatory T Cells in Crohn's Disease ». *Romanian Journal of Internal Medicine = Revue Roumaine De Medecine Interne* 56, nº 3 (1 septembre 2018): 158-66. https://doi.org/10.2478/rjim-2018-0006.

Kho, Changwon, Ahyoung Lee, Dongtak Jeong, Jae Gyun Oh, Antoine H. Chaanine, Eddy Kizana, Woo Jin Park, et Roger J. Hajjar. « SUMO1-Dependent Modulation of SERCA2a in Heart Failure ». *Nature* 477, nº 7366 (7 septembre 2011): 601-5. https://doi.org/10.1038/nature10407.

Kiesler, Patricia, Ivan J. Fuss, et Warren Strober. « Experimental Models of Inflammatory Bowel Diseases ». *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* 1, nº 2 (22 janvier 2015): 154-70. https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2015.01.006.

Kim, Myung H., Seung G. Kang, Jeong H. Park, Masashi Yanagisawa, et Chang H. Kim. « Short-Chain Fatty Acids Activate GPR41 and GPR43 on Intestinal Epithelial Cells to Promote Inflammatory Responses in Mice ». *Gastroenterology* 145, nº 2 (août 2013): 396-406.e1-10. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.04.056.

Komander, David, et Michael Rape. « The Ubiquitin Code ». *Annual Review of Biochemistry* 81, nº 1 (7 juillet 2012): 203-29. https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060310-170328.

Kökten, Tunay, Franck Hansmannel, Hasan Melhem, et Laurent Peyrin-Biroulet. « Physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) ». *Hegel* N° 2, nº 2 (2016): 119-29.

Krautkramer, Kimberly A., Jing Fan, et Fredrik Bäckhed. « Gut Microbial Metabolites as Multi-Kingdom Intermediates ». *Nature Reviews. Microbiology* 19, nº 2 (février 2021): 77-94. https://doi.org/10.1038/s41579-020-0438-4.

Krumova, Petranka, Erik Meulmeester, Manuel Garrido, Marilyn Tirard, He-Hsuan Hsiao, Guillaume Bossis, Henning Urlaub, *et al.* « Sumoylation Inhibits Alpha-Synuclein Aggregation and Toxicity ». *The Journal of Cell Biology* 194, nº 1 (11 juillet 2011): 49-60. https://doi.org/10.1083/jcb.201010117.

Kumar, Amrita, Huixia Wu, Lauren S Collier-Hyams, Jason M Hansen, Tengguo Li, Kosj Yamoah, Zhen-Qiang Pan, Dean P Jones, et Andrew S Neish. « Commensal bacteria modulate cullin-dependent signaling *via* generation of reactive oxygen species ». *The EMBO Journal* 26, nº 21 (31 octobre 2007): 4457-66. https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601867.

Kumar, Amrita, Huixia Wu, Lauren S. Collier-Hyams, Young-Man Kwon, Jason M. Hanson, et Andrew S. Neish. « The Bacterial Fermentation Product Butyrate Influences Epithelial Signaling *via* Reactive Oxygen Species-Mediated Changes in Cullin-1 Neddylation ». *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 182, nº 1 (1 janvier 2009): 538-46.

Kumar, Ashutosh, et Kam Y. J. Zhang. « Advances in the Development of SUMO Specific Protease (SENP) Inhibitors ». *Computational and Structural Biotechnology Journal* 13 (2015): 204-11. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2015.03.001.

Kumari, Reena, Vineet Ahuja, et Jaishree Paul. « Fluctuations in Butyrate-Producing Bacteria in Ulcerative Colitis Patients of North India ». *World Journal of Gastroenterology* 19, nº 22 (14 juin 2013): 3404-14. https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i22.3404.

Lallemand-Breitenbach, Valérie, Marion Jeanne, Shirine Benhenda, Rihab Nasr, Ming Lei, Laurent Peres, Jun Zhou, Jun Zhu, Brian Raught, et Hugues de Thé. « Arsenic Degrades PML or PML–RARα through

a SUMO-Triggered RNF4/Ubiquitin-Mediated Pathway ». *Nature Cell Biology* 10, nº 5 (mai 2008): 547-55. https://doi.org/10.1038/ncb1717

Lallemand-Breitenbach, Valérie, et Hugues de Thé. « PML Nuclear Bodies ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2, nº 5 (mai 2010): a000661. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000661.

Lallemand-Breitenbach, Valérie, et Hugues de Thé. « PML Nuclear Bodies: From Architecture to Function ». *Current Opinion in Cell Biology* 52 (juin 2018): 154-61. https://doi.org/10.1016/j.ceb.2018.03.011.

Lapaquette, Pierre, Marie-Agnès Bringer, et Arlette Darfeuille-Michaud. « Defects in Autophagy Favour Adherent-Invasive Escherichia Coli Persistence within Macrophages Leading to Increased pro-Inflammatory Response ». *Cellular Microbiology* 14, nº 6 (2012): 791-807. https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2012.01768.x.

Lapaquette, Pierre, Sabrina Fritah, Nouara Lhocine, Alexandra Andrieux, Giulia Nigro, Joëlle Mounier, Philippe Sansonetti, et Anne Dejean. « Shigella Entry Unveils a Calcium/Calpain-Dependent Mechanism for Inhibiting Sumoylation ». *ELife* 6 (12 décembre 2017). https://doi.org/10.7554/eLife.27444.

Lavelle, Aonghus, et Harry Sokol. « Gut Microbiota-Derived Metabolites as Key Actors in Inflammatory Bowel Disease ». *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology* 17, nº 4 (avril 2020): 223-37. https://doi.org/10.1038/s41575-019-0258-z.

Le Gall, Gwénaëlle, Samah O. Noor, Karyn Ridgway, Louise Scovell, Crawford Jamieson, Ian T. Johnson, Ian J. Colquhoun, E. Kate Kemsley, et Arjan Narbad. « Metabolomics of Fecal Extracts Detects Altered Metabolic Activity of Gut Microbiota in Ulcerative Colitis and Irritable Bowel Syndrome ». *Journal of Proteome Research* 10, nº 9 (2 septembre 2011): 4208-18. https://doi.org/10.1021/pr2003598.

Le Poul, Emmanuel, Cecile Loison, Sofie Struyf, Jean-Yves Springael, Vincent Lannoy, Marie-Eve Decobecq, Stephane Brezillon, *et al.* « Functional Characterization of Human Receptors for Short Chain Fatty Acids and Their Role in Polymorphonuclear Cell Activation ». *The Journal of Biological Chemistry* 278, nº 28 (11 juillet 2003): 25481-89. https://doi.org/10.1074/jbc.M301403200.

Lee, Moon Hee, Angela M. Mabb, Grace B. Gill, Edward T.H. Yeh, et Shigeki Miyamoto. « NF-KB Induction of the SUMO Protease SENP2: A Negative Feedback Loop to Attenuate Cell Survival Response to Genotoxic Stress ». *Molecular Cell* 43, nº 2 (juillet 2011): 180-91. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.06.017.

Leitao, Beatriz B., Marius C. Jones, et Jan J. Brosens. « The SUMO E3-Ligase PIAS1 Couples Reactive Oxygen Species-Dependent JNK Activation to Oxidative Cell Death ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 25, nº 10 (octobre 2011): 3416-25. https://doi.org/10.1096/fj.11-186346.

Li, Wei, et Yihong Ye. « Polyubiquitin chains: functions, structures, and mechanisms ». *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 65, nº 15 (août 2008): 2397-2406. https://doi.org/10.1007/s00018-008-8090-6.

Liang, Ya-Chen, Chia-Chin Lee, Ya-Li Yao, Chien-Chen Lai, M. Lienhard Schmitz, et Wen-Ming Yang. « SUMO5, a Novel Poly-SUMO Isoform, Regulates PML Nuclear Bodies ». *Scientific Reports* 6 (23 mai 2016). https://doi.org/10.1038/srep26509.

Lin, Hua V., Andrea Frassetto, Edward J. Kowalik, Andrea R. Nawrocki, Mofei M. Lu, Jennifer R. Kosinski, James A. Hubert, *et al.* « Butyrate and Propionate Protect against Diet-Induced Obesity and Regulate

Gut Hormones *via* Free Fatty Acid Receptor 3-Independent Mechanisms ». *PloS One* 7, nº 4 (2012): e35240. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035240.

Liu, Bin, Randy Yang, Kelly A. Wong, Crescent Getman, Natalie Stein, Michael A. Teitell, Genhong Cheng, Hong Wu, et Ke Shuai. « Negative Regulation of NF-κB Signaling by PIAS1 ». *Molecular and Cellular Biology* 25, nº 3 (février 2005): 1113-23. https://doi.org/10.1128/MCB.25.3.1113-1123.2005.

Liu, Liang-ming, Ming-guo Yan, Dao-hua Yang, Wei-wei Sun, et Ji-xiang Zhang. « PIAS3 Expression in Human Gastric Carcinoma and Its Adjacent Non-Tumor Tissues ». *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 35, nº 5 (1 mai 2011): 393-98. https://doi.org/10.1016/j.clinre.2010.12.002.

Liu, Hui-wen, Jie Zhang, George F. Heine, Mansi Arora, Hatice Gulcin Ozer, Raghuram Onti-Srinivasan, Kun Huang, et Jeffrey D. Parvin. « Chromatin Modification by SUMO-1 Stimulates the Promoters of Translation Machinery Genes ». *Nucleic Acids Research* 40, nº 20 (1 novembre 2012): 10172-86. https://doi.org/10.1093/nar/gks819.

Liu, Ting, Lingyun Zhang, Donghyun Joo, et Shao-Cong Sun. « NF-KB Signaling in Inflammation ». *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2 (2017): 17023. https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23.

Liu, Yu, Dan Zhao, Fang Qiu, Ling-Ling Zhang, Shang-Kun Liu, Yuan-Yuan Li, Mei-Tong Liu, *et al.* « Manipulating PML SUMOylation *via* Silencing UBC9 and RNF4 Regulates Cardiac Fibrosis ». *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy* 25, nº 3 (1 mars 2017): 666-78. https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2016.12.021.

Lopez-Siles, Mireia, Sylvia H. Duncan, L. Jesús Garcia-Gil, et Margarita Martinez-Medina. « Faecalibacterium Prausnitzii : From Microbiology to Diagnostics and Prognostics ». *The ISME Journal* 11, nº 4 (avril 2017): 841-52. https://doi.org/10.1038/ismej.2016.176.

Lührs, H., T. Gerke, J. G. Müller, R. Melcher, J. Schauber, F. Boxberge, W. Scheppach, et T. Menzel. « Butyrate Inhibits NF-KappaB Activation in Lamina Propria Macrophages of Patients with Ulcerative Colitis ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 37, nº 4 (avril 2002): 458-66. https://doi.org/10.1080/003655202317316105.

Luo, Hong-Bin, Yi-Yuan Xia, Xi-Ji Shu, Zan-Chao Liu, Ye Feng, Xing-Hua Liu, Guang Yu, *et al.* « SUMOylation at K340 Inhibits Tau Degradation through Deregulating Its Phosphorylation and Ubiquitination ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111, nº 46 (18 novembre 2014): 16586-91. https://doi.org/10.1073/pnas.1417548111.

Ma, X., P. X. Fan, L. S. Li, S. Y. Qiao, G. L. Zhang, et D. F. Li. « Butyrate Promotes the Recovering of Intestinal Wound Healing through Its Positive Effect on the Tight Junctions ». *Journal of Animal Science* 90 Suppl 4 (décembre 2012): 266-68. https://doi.org/10.2527/jas.50965.

Mabb, A. M., et S. Miyamoto. « SUMO and NF-KappaB Ties ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 64, nº 15 (août 2007): 1979-96. https://doi.org/10.1007/s00018-007-7005-2.

McDoniels-Silvers, Amy L., Caramella F. Nimri, Gary D. Stoner, Ronald A. Lubet, et Ming You. « Differential Gene Expression in Human Lung Adenocarcinomas and Squamous Cell Carcinomas ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 8, nº 4 (avril 2002): 1127-38.

Macfarlane, G.T., G.R. Gibson, E. Beatty, et J.H. Cummings. « Estimation of short-chain fatty acid production from protein by human intestinal bacteria based on branched-chain fatty acid measurements ». *FEMS Microbiology Letters* 101, nº 2 (1 juillet 1992): 81-88. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05764.x.

Machiels, Kathleen, Marie Joossens, João Sabino, Vicky De Preter, Ingrid Arijs, Venessa Eeckhaut, Vera Ballet, *et al.* « A Decrease of the Butyrate-Producing Species Roseburia Hominis and Faecalibacterium Prausnitzii Defines Dysbiosis in Patients with Ulcerative Colitis ». *Gut* 63, nº 8 (août 2014): 1275-83. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-304833.

Mack, Isabelle, Ulrich Cuntz, Claudia Grämer, Sabrina Niedermaier, Charlotte Pohl, Andreas Schwiertz, Kurt Zimmermann, Stephan Zipfel, Paul Enck, et John Penders. « Weight Gain in Anorexia Nervosa Does Not Ameliorate the Faecal Microbiota, Branched Chain Fatty Acid Profiles and Gastrointestinal Complaints ». *Scientific Reports* 6, nº 1 (27 mai 2016): 26752. https://doi.org/10.1038/srep26752.

Macia, Laurence, Jian Tan, Angelica T. Vieira, Katie Leach, Dragana Stanley, Suzanne Luong, Mikako Maruya, *et al.* « Metabolite-Sensing Receptors GPR43 and GPR109A Facilitate Dietary Fibre-Induced Gut Homeostasis through Regulation of the Inflammasome ». *Nature Communications* 6, nº 1 (1 avril 2015): 6734. https://doi.org/10.1038/ncomms7734.

Manza, Linda L., Simona G. Codreanu, Sheryl L. Stamer, Darrin L. Smith, K. Sam Wells, Richard L. Roberts, et Daniel C. Liebler. « Global Shifts in Protein Sumoylation in Response to Electrophile and Oxidative Stress ». *Chemical Research in Toxicology* 17, nº 12 (décembre 2004): 1706-15. https://doi.org/10.1021/tx049767l.

Marteau, Philippe, et Joël Doré. « Le microbiote intestinal : Un organe à part entière ». JOHN LIBBEY EUROTEXT. Consulté le 15 octobre 2021. https://www.jle.com/fr/ouvrages/e-docs/le_microbiote_intestinal_308828/ouvrage.phtml.

Martín, Rebeca, Florian Chain, Sylvie Miquel, Jun Lu, Jean-Jacques Gratadoux, Harry Sokol, Elena F. Verdu, Premysl Bercik, Luis G. Bermúdez-Humarán, et Philippe Langella. « The Commensal Bacterium Faecalibacterium Prausnitzii Is Protective in DNBS-Induced Chronic Moderate and Severe Colitis Models ». *Inflammatory Bowel Diseases* 20, nº 3 (mars 2014): 417-30. https://doi.org/10.1097/01.MIB.0000440815.76627.64.

Martín, Rebeca, Sylvie Miquel, Florian Chain, Jane M. Natividad, Jennifer Jury, Jun Lu, Harry Sokol, *et al.* « Faecalibacterium Prausnitzii Prevents Physiological Damages in a Chronic Low-Grade Inflammation Murine Model ». *BMC Microbiology* 15 (21 mars 2015): 67. https://doi.org/10.1186/s12866-015-0400-1.

Martin, Helen M., Barry J. Campbell, C. Anthony Hart, Chiedzo Mpofu, Manu Nayar, Ravinder Singh, Hans Englyst, Helen F. Williams, et Jonathan M. Rhodes. « Enhanced Escherichia Coli Adherence and Invasion in Crohn's Disease and Colon Cancer *Gastroenterology* 127, nº 1 (1 juillet 2004): 80-93. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.03.054.

Mashukova, Anastasia, Fla*via* A. Wald, et Pedro J. Salas. « Tumor Necrosis Factor Alpha and Inflammation Disrupt the Polarity Complex in Intestinal Epithelial Cells by a Posttranslational Mechanism ». *Molecular and Cellular Biology* 31, nº 4 (février 2011): 756-65. https://doi.org/10.1128/MCB.00811-10.

Maslowski, Kendle M., Angelica T. Vieira, Aylwin Ng, Jan Kranich, Frederic Sierro, Di Yu, Heidi C. Schilter, *et al.* « Regulation of Inflammatory Responses by Gut Microbiota and Chemoattractant Receptor GPR43 ». *Nature* 461, nº 7268 (29 octobre 2009): 1282-86. https://doi.org/10.1038/nature08530.

Masui, Ryuta, Makoto Sasaki, Yasushi Funaki, Naotaka Ogasawara, Mari Mizuno, Akihito Iida, Shinya Izawa, et al. « G Protein-Coupled Receptor 43 Moderates Gut Inflammation through Cytokine Regulation from Mononuclear Cells ». *Inflammatory Bowel Diseases* 19, nº 13 (décembre 2013): 2848-56. https://doi.org/10.1097/01.MIB.0000435444.14860.ea.

Mazmanian, Sarkis K., Cui Hua Liu, Arthur O. Tzianabos, et Dennis L. Kasper. « An Immunomodulatory Molecule of Symbiotic Bacteria Directs Maturation of the Host Immune System ». *Cell* 122, nº 1 (15 juillet 2005): 107-18. https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.05.007.

Meijerink, Jocelijn. « The Intestinal Fatty Acid-Enteroendocrine Interplay, Emerging Roles for Olfactory Signaling and Serotonin Conjugates ». *Molecules* 26, nº 5 (5 mars 2021). https://doi.org/10.3390/molecules26051416.

Mika, Adriana, Piotr Stepnowski, Lukasz Kaska, Monika Proczko, Piotr Wisniewski, Maciej Sledzinski, et Tomasz Sledzinski. « A Comprehensive Study of Serum Odd- and Branched-Chain Fatty Acids in Patients with Excess Weight ». *Obesity* 24, nº 8 (2016): 1669-76. https://doi.org/10.1002/oby.21560.

Mo, Yin-Yuan, Yanni Yu, Elena Theodosiou, P L Rachel Ee, et William T Beck. « A Role for Ubc9 in Tumorigenesis ». *Oncogene* 24, nº 16 (avril 2005): 2677-83. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208210.

Moschos, Stergios J., Drazen M. Jukic, Charalambos Athanassiou, Rohit Bhargava, Sanja Dacic, Xiaolei Wang, Shih-Fan Kuan, *et al.* « Expression Analysis of Ubc9, the Single Small Ubiquitin-like Modifier (SUMO) E2 Conjugating Enzyme, in Normal and Malignant Tissues ». *Human Pathology* 41, nº 9 (1 septembre 2010): 1286-98. https://doi.org/10.1016/j.humpath.2010.02.007.

Mukhopadhyay, Debaditya, et Mary Dasso. « Modification in Reverse: The SUMO Proteases ». *Trends in Biochemical Sciences* 32, nº 6 (juin 2007): 286-95. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2007.05.002.

Mustfa, Salman Ahmad, Mukesh Singh, Aamir Suhail, Gayatree Mohapatra, Smriti Verma, Debangana Chakravorty, Sarika Rana, *et al.* « SUMOylation Pathway Alteration Coupled with Downregulation of SUMO E2 Enzyme at Mucosal Epithelium Modulates Inflammation in Inflammatory Bowel Disease ». *Open Biology* 7, nº 6 (juin 2017): 170024. https://doi.org/10.1098/rsob.170024.

Nakayama, Keiichi I., et Keiko Nakayama. « Ubiquitin Ligases: Cell-Cycle Control and Cancer ». *Nature Reviews Cancer* 6, nº 5 (mai 2006): 369-81. https://doi.org/10.1038/nrc1881.

Neish, A. S., A. T. Gewirtz, H. Zeng, A. N. Young, M. E. Hobert, V. Karmali, A. S. Rao, et J. L. Madara. « Prokaryotic Regulation of Epithelial Responses by Inhibition of IkappaB-Alpha Ubiquitination ». *Science (New York, N.Y.)* 289, nº 5484 (1 septembre 2000): 1560-63. https://doi.org/10.1126/science.289.5484.1560.

Neurath, Markus F., et Mircea T. Chiriac. « Targeting Immune Cell Wiring in Ulcerative Colitis ». *Immunity* 51, nº 5 (19 novembre 2019): 791-93. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.10.011.

Neyret-Kahn, Hélène, Moussa Benhamed, Tao Ye, Stéphanie Le Gras, Jack-Christophe Cossec, Pierre Lapaquette, Oliver Bischof, *et al.* « Sumoylation at Chromatin Governs Coordinated Repression of a Transcriptional Program Essential for Cell Growth and Proliferation ». *Genome Research* 23, nº 10 (octobre 2013): 1563-79. https://doi.org/10.1101/gr.154872.113.

Nicolaides, N., Hwei C. Fu, M. N. A. Ansari, et Gary R. Rice. « The Fatty Acids of Wax Esters and Sterol Esters from Vernix Caseosa and from Human Skin Surface Lipid ». *Lipids* 7, nº 8 (1972): 506-17. https://doi.org/10.1007/BF02533016.

Nishida, Atsushi, Ryo Inoue, Osamu Inatomi, Shigeki Bamba, Yuji Naito, et Akira Andoh. « Gut Microbiota in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease ». *Clinical Journal of Gastroenterology* 11, nº 1 (février 2018): 1-10. https://doi.org/10.1007/s12328-017-0813-5.

Nowarski, Roni, Ruaidhrí Jackson, Nicola Gagliani, Marcel R. de Zoete, Noah W. Palm, Will Bailis, Jun Siong Low, et al. « Epithelial IL-18 Equilibrium Controls Barrier Function in Colitis ». *Cell* 163, nº 6 (3 décembre 2015): 1444-56. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.072.

Nugent, S. G., D. Kumar, D. S. Rampton, et D. F. Evans. « Intestinal Luminal PH in Inflammatory Bowel Disease: Possible Determinants and Implications for Therapy with Aminosalicylates and Other Drugs ». *Gut* 48, nº 4 (avril 2001): 571-77. https://doi.org/10.1136/gut.48.4.571.

Oh, Yohan, Yong Man Kim, M. Maral Mouradian, et Kwang Chul Chung. « Human Polycomb Protein 2 Promotes α-Synuclein Aggregate Formation through Covalent SUMOylation ». *Brain Research* 1381 (24 mars 2011): 78-89. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.01.039.

Oka, Yasuyoshi, Hanne Varmark, Kristoffer Vitting-Seerup, Petra Beli, Johannes Waage, Anna Hakobyan, Martin Mistrik, *et al.* « UBL5 is essential for pre-mRNA splicing and sister chromatid cohesion in human cells ». *EMBO Reports* 15, nº 9 (septembre 2014): 956-64. https://doi.org/10.15252/embr.201438679.

On, Jensen. « Modification-Specific Proteomics: Characterization of Post-Translational Modifications by Mass Spectrometry. » *Current Opinion in Chemical Biology* 8, nº 1 (1 février 2004): 33-41. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2003.12.009.

Oppong, Gertrude O., Glenn J. Rapsinski, Sarah A. Tursi, Steven G. Biesecker, Andres J. P. Klein-Szanto, Mark Goulian, Christine McCauley, Catherine Healy, R. Paul Wilson, et Cagla Tükel. « Biofilm-Associated Bacterial Amyloids Dampen Inflammation in the Gut: Oral Treatment with Curli Fibres Reduces the Severity of Hapten-Induced Colitis in Mice ». *Npj Biofilms and Microbiomes* 1, nº 1 (14 octobre 2015): 1-8. https://doi.org/10.1038/npjbiofilms.2015.19.

Owerbach, David, Eileen M. McKay, Edward T. H. Yeh, Kenneth H. Gabbay, et Kurt M. Bohren. « A Proline-90 Residue Unique to SUMO-4 Prevents Maturation and Sumoylation ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 337, nº 2 (18 novembre 2005): 517-20. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.09.090.

Palau-Rodriguez, Magali, Sara Tulipani, Maria Isabel Queipo-Ortuño, Mireia Urpi-Sarda, Francisco J. Tinahones, et Cristina Andres-Lacueva. « Metabolomic Insights into the Intricate Gut Microbial–Host Interaction in the Development of Obesity and Type 2 Diabetes ». *Frontiers in Microbiology* 6 (2015). https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01151.

Paone, Paola, et Patrice D Cani. « Mucus Barrier, Mucins and Gut Microbiota: The Expected Slimy Partners? » *Gut* 69, nº 12 (décembre 2020): 2232-43. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-322260.

Parada Venegas, Daniela, Marjorie K. De la Fuente, Glauben Landskron, María Julieta González, Rodrigo Quera, Gerard Dijkstra, Hermie J. M. Harmsen, Klaas Nico Faber, et Marcela A. Hermoso. « Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases ». *Frontiers in Immunology* 10 (11 mars 2019). https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00277.

Parry, Geraint, et Mark Estelle. « Regulation of Cullin-Based Ubiquitin Ligases by the Nedd8/RUB Ubiquitin-like Proteins ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 15, nº 2 (avril 2004): 221-29. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2003.12.003.

Pascual, Gabriel, Amy L. Fong, Sumito Ogawa, Amir Gamliel, Andrew C. Li, Valentina Perissi, David W. Rose, Timothy Willson, Michael G. Rosenfeld, et Christopher K. Glass. « A sumoylation-dependent pathway mediating transrepression of inflammatory response genes by PPARγ ». *Nature* 437, nº 7059 (29 septembre 2005): 759-63. https://doi.org/10.1038/nature03988.

Patterson, Elaine, Paul M. Ryan, John F. Cryan, Timothy G. Dinan, R. Paul Ross, Gerald F. Fitzgerald, et Catherine Stanton. « Gut Microbiota, Obesity and Diabetes ». *Postgraduate Medical Journal* 92, nº 1087 (mai 2016): 286-300. https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2015-133285.

Patz, J., W. Z. Jacobsohn, S. Gottschalk-Sabag, S. Zeides, et D. Z. Braverman. « Treatment of Refractory Distal Ulcerative Colitis with Short Chain Fatty Acid Enemas ». *The American Journal of Gastroenterology* 91, nº 4 (avril 1996): 731-34.

Paulsen, Candice E., et Kate S. Carroll. « Orchestrating Redox Signaling Networks through Regulatory Cysteine Switches ». *ACS Chemical Biology* 5, nº 1 (15 janvier 2010): 47-62. https://doi.org/10.1021/cb900258z.

Pb, Meluh, et Koshland D. « Evidence That the MIF2 Gene of Saccharomyces Cerevisiae Encodes a Centromere Protein with Homology to the Mammalian Centromere Protein CENP-C. » *Molecular Biology of the Cell* 6, nº 7 (1 juillet 1995): 793-807. https://doi.org/10.1091/mbc.6.7.793.

Perng, Yi-Chieh, et Deborah J. Lenschow. « ISG15 in Antiviral Immunity and Beyond ». *Nature Reviews Microbiology* 16, nº 7 (juillet 2018): 423-39. https://doi.org/10.1038/s41579-018-0020-5.

Petersen, Charisse, et June L Round. « Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease ». *Cellular Microbiology* 16, nº 7 (juillet 2014): 1024-33. https://doi.org/10.1111/cmi.12308.

Petersen, Charisse, et June L. Round. « Defining Dysbiosis and Its Influence on Host Immunity and Disease ». *Cellular Microbiology* 16, nº 7 (juillet 2014): 1024-33. https://doi.org/10.1111/cmi.12308.

Pieper, Robert, Susan Kröger, Jan F. Richter, Jing Wang, Lena Martin, Jérôme Bindelle, John K. Htoo, *et al.* « Fermentable Fiber Ameliorates Fermentable Protein-Induced Changes in Microbial Ecology, but Not the Mucosal Response, in the Colon of Piglets ». *The Journal of Nutrition* 142, nº 4 (avril 2012): 661-67. https://doi.org/10.3945/jn.111.156190.

Pinto, Manuel P., Andreia F. Carvalho, Cláudia P. Grou, José E. Rodríguez-Borges, Clara Sá-Miranda, et Jorge E. Azevedo. « Heat Shock Induces a Massive but Differential Inactivation of SUMO-Specific Proteases ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1823, nº 10 (octobre 2012): 1958-66. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2012.07.010.

Pinto, Daniel, et Hans Clevers. « Wnt Control of Stem Cells and Differentiation in the Intestinal Epithelium ». *Experimental Cell Research* 306, nº 2 (10 juin 2005): 357-63. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.02.022.

Portune, Kevin J., Martin Beaumont, Anne-Marie Davila, Daniel Tomé, François Blachier, et Yolanda Sanz. « Gut Microbiota Role in Dietary Protein Metabolism and Health-Related Outcomes: The Two Sides of the Coin ». *Trends in Food Science & Technology*, Unravelling the role of the gut microbiome in energy balance and brain development and function: the European project MyNewGut, 57 (1 novembre 2016): 213-32. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.011.

Princz, Andrea, et Nektarios Tavernarakis. « SUMOylation in Neurodegenerative Diseases ». *Gerontology* 66, nº 2 (2020): 122-30. https://doi.org/10.1159/000502142.

Priyadarshini, Medha, Kumar U. Kotlo, Pradeep K. Dudeja, et Brian T. Layden. « Role of Short Chain Fatty Acid Receptors in Intestinal Physiology and Pathophysiology ». *Comprehensive Physiology* 8, nº 3 (18 juin 2018): 1091-1115. https://doi.org/10.1002/cphy.c170050.

Ptak, Christopher, et Richard W. Wozniak. « SUMO and Nucleocytoplasmic Transport ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 963 (2017): 111-26. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50044-7_7.

R. M. Jones, J. W. Mercante. « Reactive Oxygen Production Induced by the Gut Microbiota: Pharmacotherapeutic Implications ». *Current Medicinal Chemistry* 19, nº 10 (31 mars 2012): 1519-29.

Rabot, Sylvie, Mathieu Membrez, Aurélia Bruneau, Philippe Gérard, Taoufiq Harach, Mireille Moser, Frederic Raymond, Robert Mansourian, et Chieh J. Chou. « Germ-Free C57BL/6J Mice Are Resistant to High-Fat-Diet-Induced Insulin Resistance and Have Altered Cholesterol Metabolism ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 24, nº 12 (décembre 2010): 4948-59. https://doi.org/10.1096/fj.10-164921.

Ramakrishna, Balakrishnan S. « Role of the Gut Microbiota in Human Nutrition and Metabolism ». *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 28, nº S4 (2013): 9-17. https://doi.org/10.1111/jgh.12294.

Ran-Ressler, Rinat R., Raymond P Glahn, SangEun Bae, et J. Thomas Brenna. « Branched Chain Fatty Acids (BCFA) in the neonatal gut, and estimated dietary intake in infancy and adulthood ». *Nestle Nutrition Institute workshop series* 77 (2013): 133-43. https://doi.org/10.1159/000351396.

Ran-Ressler, Rinat R., Ludmila Khailova, Kelly M. Arganbright, Camille K. Adkins-Rieck, Zeina E. Jouni, Omry Koren, Ruth E. Ley, J. Thomas Brenna, et Bohuslav Dvorak. « Branched Chain Fatty Acids Reduce the Incidence of Necrotizing Enterocolitis and Alter Gastrointestinal Microbial Ecology in a Neonatal Rat Model ». *PLoS ONE* 6, nº 12 (14 décembre 2011). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029032.

Rape, Michael. « Ubiquitylation at the Crossroads of Development and Disease ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 19, nº 1 (janvier 2018): 59-70. https://doi.org/10.1038/nrm.2017.83.

Ribet, David, Serena Boscaini, Clothilde Cauvin, Martin Siguier, Serge Mostowy, Arnaud Echard, et Pascale Cossart. « SUMOylation of Human Septins Is Critical for Septin Filament Bundling and Cytokinesis ». *Journal of Cell Biology* 216, nº 12 (4 décembre 2017): 4041-52. https://doi.org/10.1083/jcb.201703096.

Ribet, David, et Pascale Cossart. « *Listeria* en lutte avec SUMO ». *médecine/sciences* 26, nº 5 (mai 2010): 545-47. https://doi.org/10.1051/medsci/2010265545.

Ribet, David, Mélanie Hamon, Edith Gouin, Marie-Anne Nahori, Francis Impens, Hélène Neyret-Kahn, Kris Gevaert, Joël Vandekerckhove, Anne Dejean, et Pascale Cossart. « Listeria Monocytogenes Impairs SUMOylation for Efficient Infection ». *Nature* 464, nº 7292 (avril 2010): 1192-95. https://doi.org/10.1038/nature08963.

Rios-Covian, David, Sonia González, Alicja M. Nogacka, Sil*via* Arboleya, Nuria Salazar, Miguel Gueimonde, et Clara G. de los Reyes-Gavilán. « An Overview on Fecal Branched Short-Chain Fatty Acids Along Human Life and as Related With Body Mass Index: Associated Dietary and Anthropometric Factors ». *Frontiers in Microbiology* 11 (2020). https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00973.

Ríos-Covián, David, Patricia Ruas-Madiedo, Abelardo Margolles, Miguel Gueimonde, Clara G. de los Reyes-Gavilán, et Nuria Salazar. « Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health ». *Frontiers in Microbiology* 7 (17 février 2016). https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00185.

Rios-Covian, David, Nuria Salazar, Miguel Gueimonde, et Clara G. de los Reyes-Gavilan. « Shaping the Metabolism of Intestinal Bacteroides Population through Diet to Improve Human Health ». *Frontiers in Microbiology* 8 (7 mars 2017). https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00376.

Rodríguez, Juan Miguel, Kiera Murphy, Catherine Stanton, R. Paul Ross, Oli*via* I. Kober, Nathalie Juge, Ekaterina Avershina, *et al.* « The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life ». *Microbial Ecology in Health and Disease* 26 (2 février 2015). https://doi.org/10.3402/mehd.v26.26050.

Rodríguez-Castañeda, Fernando, Roza Berhanu Lemma, Ignacio Cuervo, Mads Bengtsen, Lisa Marie Moen, Marit Ledsaak, Ragnhild Eskeland, et Odd Stokke Gabrielsen. « The SUMO protease SENP1 and the

chromatin remodeler CHD3 interact and jointly affect chromatin accessibility and gene expression ». *The Journal of Biological Chemistry* 293, nº 40 (5 octobre 2018): 15439-54. https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002844.

Rodriguez, M. S., C. Dargemont, et R. T. Hay. « SUMO-1 Conjugation in Vivo Requires Both a Consensus Modification Motif and Nuclear Targeting ». *The Journal of Biological Chemistry* 276, nº 16 (20 avril 2001): 12654-59. https://doi.org/10.1074/jbc.M009476200.

Rooks, Michelle G., et Wendy S. Garrett. « Gut microbiota, metabolites and host immunity ». *Nature reviews. Immunology* 16, nº 6 (27 mai 2016): 341-52. https://doi.org/10.1038/nri.2016.42.

Rosas-Acosta, Germán, William K. Russell, Adeline Deyrieux, David H. Russell, et Van G. Wilson. « A universal strategy for proteomic studies of SUMO and other ubiquitin-like modifiers ». *Molecular & cellular proteomics : MCP* 4, nº 1 (janvier 2005): 56-72. https://doi.org/10.1074/mcp.M400149-MCP200.

Rosonina, Emanuel, Akhi Akhter, Yimo Dou, John Babu, et Veroni S. Sri Theivakadadcham. « Regulation of Transcription Factors by Sumoylation ». *Transcription* 8, nº 4 (8 août 2017): 220-31. https://doi.org/10.1080/21541264.2017.1311829.

Rowland, Ian, Glenn Gibson, Almut Heinken, Karen Scott, Jonathan Swann, Ines Thiele, et Kieran Tuohy. « Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components ». *European Journal of Nutrition* 57, nº 1 (2018): 1-24. https://doi.org/10.1007/s00394-017-1445-8.

Royall, D., T. M. Wolever, et K. N. Jeejeebhoy. « Clinical Significance of Colonic Fermentation ». *The American Journal of Gastroenterology* 85, nº 10 (octobre 1990): 1307-12.

Russell, Wendy R., Silvia W. Gratz, Sylvia H. Duncan, Grietje Holtrop, Jennifer Ince, Lorraine Scobbie, Garry Duncan, *et al.* « High-Protein, Reduced-Carbohydrate Weight-Loss Diets Promote Metabolite Profiles Likely to Be Detrimental to Colonic Health ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 93, nº 5 (mai 2011): 1062-72. https://doi.org/10.3945/ajcn.110.002188.

Saitoh, H., et J. Hinchey. « Functional Heterogeneity of Small Ubiquitin-Related Protein Modifiers SUMO-1 versus SUMO-2/3 ». *The Journal of Biological Chemistry* 275, nº 9 (3 mars 2000): 6252-58. https://doi.org/10.1074/jbc.275.9.6252.

Saltzman, A., G. Searfoss, C. Marcireau, M. Stone, R. Ressner, R. Munro, C. Franks, *et al.* « HUBC9 Associates with MEKK1 and Type I TNF-Alpha Receptor and Stimulates NFkappaB Activity ». *FEBS Letters* 425, nº 3 (3 avril 1998): 431-35. https://doi.org/10.1016/s0014-5793(98)00287-7.

Sarangi, Prabha, et Xiaolan Zhao. « SUMO-mediated regulation of DNA damage repair and responses ». *Trends in biochemical sciences* 40, nº 4 (avril 2015): 233-42. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.02.006

Scheppach, W. « Treatment of Distal Ulcerative Colitis with Short-Chain Fatty Acid Enemas. A Placebo-Controlled Trial. German-Austrian SCFA Study Group ». *Digestive Diseases and Sciences* 41, nº 11 (novembre 1996): 2254-59. https://doi.org/10.1007/BF02071409.

Scheppach, W., S. U. Christl, H. P. Bartram, F. Richter, et H. Kasper. « Effects of Short-Chain Fatty Acids on the Inflamed Colonic Mucosa ». *Scandinavian Journal of Gastroenterology. Supplement* 222 (1997): 53-57. https://doi.org/10.1080/00365521.1997.11720719

Scheppach, W., J. G. Müller, F. Boxberger, G. Dusel, F. Richter, H. P. Bartram, S. U. Christl, C. E. Dempfle, et H. Kasper. « Histological Changes in the Colonic Mucosa Following Irrigation with Short-Chain Fatty Acids ». *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 9, nº 2 (février 1997): 163-68. https://doi.org/10.1097/00042737-199702000-00010.

Schmidt, Johannes, Nicola J. Smith, Elisabeth Christiansen, Irina G. Tikhonova, Manuel Grundmann, Brian D. Hudson, Richard J. Ward, *et al.* « Selective Orthosteric Free Fatty Acid Receptor 2 (FFA2) Agonists: Identification of the Structural and Chemical Requirements for Selective Activation of FFA2 versus FFA3 ». *The Journal of Biological Chemistry* 286, nº 12 (25 mars 2011): 10628-40. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.210872.

Seeler, Jacob-Sebastian, et Anne Dejean. « SUMO and the Robustness of Cancer ». *Nature Reviews Cancer* 17, nº 3 (mars 2017): 184-97. https://doi.org/10.1038/nrc.2016.143.

Segain, J.-P., D. Raingeard de la Blétière, A. Bourreille, V. Leray, N. Gervois, C. Rosales, L. Ferrier, C. Bonnet, H. M. Blottière, et J.-P. Galmiche. « Butyrate Inhibits Inflammatory Responses through NFκB Inhibition: Implications for Crohn's Disease ». *Gut* 47, nº 3 (1 septembre 2000): 397-403. https://doi.org/10.1136/gut.47.3.397.

Sellin JH. SCFAs: The Enigma of Weak Electrolyte Transport in the Colon. News Physiol Sci. 1999 Apr;14:58-64. doi: 10.1152/physiologyonline.1999.14.2.58. PMID: 11390821. - Recherche Google ». Consulté le 5 juin 2021.

Sender, Ron, Shai Fuchs, et Ron Milo. « Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body ». *PLoS Biology* 14, nº 8 (août 2016): e1002533. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533.

Shao, Bo-Zong, Zhe-Qi Xu, Bin-Ze Han, Ding-Feng Su, et Chong Liu. « NLRP3 Inflammasome and Its Inhibitors: A Review ». *Frontiers in Pharmacology* 6 (2015): 262. https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00262.

Shen, Zhiyuan, Paige E. Pardington-Purtymun, Jarmon C. Comeaux, Robert K. Moyzis, et David J. Chen. « UBL1, a Human Ubiquitin-like Protein Associating with Human RAD51/RAD52 Proteins ». *Genomics* 36, nº 2 (1 septembre 1996): 271-79. https://doi.org/10.1006/geno.1996.0462.

Shuai, Ke, et Bin Liu. « Regulation of Gene-Activation Pathways by PIAS Proteins in the Immune System ». *Nature Reviews Immunology* 5, nº 8 (août 2005): 593-605. https://doi.org/10.1038/nri1667.

Sidik, Saima M., Jayme Salsman, Graham Dellaire, et John R. Rohde. « Shigella Infection Interferes with SUMOylation and Increases PML-NB Number ». *PLOS ONE* 10, nº 4 (7 avril 2015): e0122585. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122585.

Sies, Helmut, Carsten Berndt, et Dean P. Jones. « Oxidative Stress ». *Annual Review of Biochemistry* 86 (20 juin 2017): 715-48. https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037.

Silva, João P. B., Kely C. Navegantes-Lima, Ana L. B. Oliveira, Dávila V. S. Rodrigues, Sílvia L. F. Gaspar, Valter V. S. Monteiro, Davi P. Moura, et Marta C. Monteiro. « Protective Mechanisms of Butyrate on Inflammatory Bowel Disease ». *Current Pharmaceutical Design* 24, nº 35 (2018): 4154-66. https://doi.org/10.2174/1381612824666181001153605.

Singh, Amir Kumar, Prashant Khare, Abeer Obaid, Kevin P. Conlon, Venkatesha Basrur, Ronald A. DePinho, et K. Venuprasad. « SUMOylation of ROR-Γt Inhibits IL-17 Expression and Inflammation *via* HDAC2 ». *Nature Communications* 9, nº 1 (décembre 2018): 4515. https://doi.org/10.1038/s41467-018-06924-5.

Singh, Nagendra, Ashish Gurav, Sathish Sivaprakasam, Evan Brady, Ravi Padia, Huidong Shi, Muthusamy Thangaraju, *et al.* « Activation of Gpr109a, Receptor for Niacin and the Commensal Metabolite Butyrate, Suppresses Colonic Inflammation and Carcinogenesis ». *Immunity* 40, nº 1 (16 janvier 2014): 128-39. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.12.007.

Sivaprakasam, Sathish, Yangzom D. Bhutia, Shengping Yang, et Vadivel Ganapathy. « Short-Chain Fatty Acid Transporters: Role in Colonic Homeostasis ». *Comprehensive Physiology* 8, n° 1 (12 décembre 2017): 299-314. https://doi.org/10.1002/cphy.c170014.

Smet-Nocca, Caroline, Jean-Michel Wieruszeski, Hélène Léger, Sebastian Eilebrecht, et Arndt Benecke. « SUMO-1 regulates the conformational dynamics of Thymine-DNA Glycosylase regulatory domain and competes with its DNA binding activity ». *BMC Biochemistry* 12 (1 février 2011): 4. https://doi.org/10.1186/1471-2091-12-4.

Smith, Patrick M., Michael R. Howitt, Nicolai Panikov, Monia Michaud, Carey Ann Gallini, Mohammad Bohlooly-Y, Jonathan N. Glickman, et Wendy S. Garrett. « The Microbial Metabolites, Short-Chain Fatty Acids, Regulate Colonic Treg Cell Homeostasis ». *Science (New York, N.Y.)* 341, n° 6145 (2 août 2013): 569-73. https://doi.org/10.1126/science.1241165.

Sokol, Harry, Bénédicte Pigneur, Laurie Watterlot, Omar Lakhdari, Luis G. Bermúdez-Humarán, Jean-Jacques Gratadoux, Sébastien Blugeon, *et al.* « Faecalibacterium Prausnitzii Is an Anti-Inflammatory Commensal Bacterium Identified by Gut Microbiota Analysis of Crohn Disease Patients ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, n° 43 (28 octobre 2008): 16731-36. https://doi.org/10.1073/pnas.0804812105.

Song, Gwan Gyu, Sung Jae Choi, Jong Dae Ji, et Young Ho Lee. « Association between the SUMO4 M55V (A163G) Polymorphism and Susceptibility to Type 1 Diabetes: A Meta-Analysis ». *Human Immunology* 73, n° 10 (1 octobre 2012): 1055-59. https://doi.org/10.1016/j.humimm.2012.07.341.

Srikanth, Chittur V., et Smriti Verma. « Sumoylation as an Integral Mechanism in Bacterial Infection and Disease Progression ». In *SUMO Regulation of Cellular Processes*, édité par Van G. Wilson, 963:389-408. Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing, 2017. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50044-7_22.

Stankovic-Valentin, Nicolas, et Frauke Melchior. « Control of SUMO and Ubiquitin by ROS: Signaling and Disease Implications ». *Molecular Aspects of Medicine* 63 (octobre 2018): 3-17. https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.07.002.

Stappenbeck, Thaddeus S., Lora V. Hooper, et Jeffrey I. Gordon. « Developmental Regulation of Intestinal Angiogenesis by Indigenous Microbes *via* Paneth Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, n° 24 (26 novembre 2002): 15451-55. https://doi.org/10.1073/pnas.202604299.

Stein, J., M. Zores, et O. Schröder. « Short-Chain Fatty Acid (SCFA) Uptake into Caco-2 Cells by a PH-Dependent and Carrier Mediated Transport Mechanism ». *European Journal of Nutrition* 39, n° 3 (juin 2000): 121-25. https://doi.org/10.1007/s003940070028.

Su, Siyuan, Yanqiong Zhang, et Pengda Liu. « Roles of Ubiquitination and SUMOylation in DNA Damage Response ». *Current Issues in Molecular Biology*, 2020, 59-84. https://doi.org/10.21775/cimb.035.059.

Suhail, Aamir, Zaigham Abbas Rizvi, Prabhakar Mujagond, Syed Azmal Ali, Preksha Gaur, Mukesh Singh, Vineet Ahuja, Amit Awasthi, et Chittur Venkateshwaran Srikanth. « DeSUMOylase SENP7-Mediated Epithelial Signaling Triggers Intestinal Inflammation *via* Expansion of Gamma-Delta T Cells ». *Cell Reports* 29, n° 11 (décembre 2019): 3522-3538.e7. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.11.028.

Sun, Mingming, Wei Wu, Zhanju Liu, et Yingzi Cong. « Microbiota Metabolite Short Chain Fatty Acids, GPCR, and Inflammatory Bowel Diseases ». *Journal of Gastroenterology* 52, n° 1 (janvier 2017): 1-8. https://doi.org/10.1007/s00535-016-1242-9.

Suzuki, Takuya, Shoko Yoshida, et Hiroshi Hara. « Physiological Concentrations of Short-Chain Fatty Acids Immediately Suppress Colonic Epithelial Permeability ». *The British Journal of Nutrition* 100, nº 2 (août 2008): 297-305. https://doi.org/10.1017/S0007114508888733.

Swatek, Kirby N., et David Komander. « Ubiquitin Modifications ». *Cell Research* 26, nº 4 (avril 2016): 399-422. https://doi.org/10.1038/cr.2016.39.

Szczesniak, Olga, Knut A. Hestad, Jon Fredrik Hanssen, et Knut Rudi. « Isovaleric Acid in Stool Correlates with Human Depression ». *Nutritional Neuroscience* 19, nº 7 (septembre 2016): 279-83. https://doi.org/10.1179/1476830515Y.0000000007.

T, Okura, Gong L, Kamitani T, Wada T, Okura I, Wei Cf, Chang Hm, et Yeh Et. « Protection against Fas/APO-1- and Tumor Necrosis Factor-Mediated Cell Death by a Novel Protein, Sentrin. » *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 157, nº 10 (1 novembre 1996): 4277-81.

Tahk, Samuel, Bin Liu, Vasili Chernishof, Kelly A. Wong, Hong Wu, et Ke Shuai. « Control of Specificity and Magnitude of NF-Kappa B and STAT1-Mediated Gene Activation through PIASy and PIAS1 Cooperation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, nº 28 (10 juillet 2007): 11643-48. https://doi.org/10.1073/pnas.0701877104

Takaishi, Hiromasa, Takahiro Matsuki, Atsushi Nakazawa, Toshihiko Takada, Shoichi Kado, Takashi Asahara, Nobuhiko Kamada, *et al.* « Imbalance in Intestinal Microflora Constitution Could Be Involved in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease ». *International Journal of Medical Microbiology: IJMM* 298, nº 5-6 (juillet 2008): 463-72. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.07.016.

Tammsalu, Triin, Ivan Matic, Ellis G. Jaffray, Adel F. M. Ibrahim, Michael H. Tatham, et Ronald T. Hay. « Proteome-Wide Identification of SUMO2 Modification Sites ». *Science Signaling* 7, nº 323 (29 avril 2014): rs2. https://doi.org/10.1126/scisignal.2005146.

Taormina, Victoria M., Allison L. Unger, Morgan R. Schiksnis, Moises Torres-Gonzalez, et Jana Kraft. « Branched-Chain Fatty Acids—An Underexplored Class of Dairy-Derived Fatty Acids ». *Nutrients* 12, nº 9 (20 septembre 2020). https://doi.org/10.3390/nu12092875.

Tatham, M. H., E. Jaffray, O. A. Vaughan, J. M. Desterro, C. H. Botting, J. H. Naismith, et R. T. Hay. « Polymeric Chains of SUMO-2 and SUMO-3 Are Conjugated to Protein Substrates by SAE1/SAE2 and Ubc9 ». *The Journal of Biological Chemistry* 276, nº 38 (21 septembre 2001): 35368-74. https://doi.org/10.1074/jbc.M104214200.

Tatham, Michael H., Marie-Claude Geoffroy, Linnan Shen, Anna Plechanovova, Neil Hattersley, Ellis G. Jaffray, Jorma J. Palvimo, et Ronald T. Hay. « RNF4 Is a Poly-SUMO-Specific E3 Ubiquitin Ligase Required for Arsenic-Induced PML Degradation ». *Nature Cell Biology* 10, nº 5 (mai 2008): 538-46. https://doi.org/10.1038/ncb1716.

Tatham, Michael H., Suhkmann Kim, Ellis Jaffray, Jing Song, Yuan Chen, et Ronald T. Hay. « Unique Binding Interactions among Ubc9, SUMO and RanBP2 Reveal a Mechanism for SUMO Paralog Selection ». *Nature Structural & Molecular Biology* 12, nº 1 (janvier 2005): 67-74. https://doi.org/10.1038/nsmb878.

Tazoe, H., Y. Otomo, I. Kaji, R. Tanaka, S.-I. Karaki, et A. Kuwahara. « Roles of Short-Chain Fatty Acids Receptors, GPR41 and GPR43 on Colonic Functions ». *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society* 59 Suppl 2 (août 2008): 251-62.

Tedelind, Sofia, Fredrik Westberg, Martin Kjerrulf, et Alexander Vidal. « Anti-Inflammatory Properties of the Short-Chain Fatty Acids Acetate and Propionate: A Study with Relevance to Inflammatory Bowel

Disease ». *World Journal of Gastroenterology* 13, nº 20 (28 mai 2007): 2826-32. https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i20.2826.

Tempé, Denis, Marc Piechaczyk, et Guillaume Bossis. « SUMO under Stress ». *Biochemical Society Transactions* 36, nº Pt 5 (octobre 2008): 874-78. https://doi.org/10.1042/BST0360874.

Thé, Hugues de, et Zhu Chen. « Acute Promyelocytic Leukaemia: Novel Insights into the Mechanisms of Cure ». *Nature Reviews. Cancer* 10, nº 11 (novembre 2010): 775-83. https://doi.org/10.1038/nrc2943.

Thibault, Ronan, François Blachier, Béatrice Darcy-Vrillon, Pierre de Coppet, Arnaud Bourreille, et Jean-Pierre Segain. « Butyrate Utilization by the Colonic Mucosa in Inflammatory Bowel Diseases: A Transport Deficiency ». *Inflammatory Bowel Diseases* 16, nº 4 (avril 2010): 684-95. https://doi.org/10.1002/ibd.21108.

Thursby, Elizabeth, et Nathalie Juge. « Introduction to the human gut microbiota ». *Biochemical Journal* 474, nº 11 (1 juin 2017): 1823-36. https://doi.org/10.1042/BCJ20160510.

Tokarz, Paulina, et Katarzyna Woźniak. « SENP Proteases as Potential Targets for Cancer Therapy ». *Cancers* 13, nº 9 (janvier 2021): 2059. https://doi.org/10.3390/cancers13092059.

Tomasi, Maria Lauda, Ivan Tomasi, Komal Ramani, Rosa Maria Pascale, Jun Xu, Pasquale Giordano, José M. Mato, et Shelly C. Lu. « S-Adenosyl Methionine Regulates Ubiquitin-Conjugating Enzyme 9 Protein Expression and Sumoylation in Murine Liver and Human Cancers ». *Hepatology (Baltimore, Md.)* 56, nº 3 (septembre 2012): 982-93. https://doi.org/10.1002/hep.25701.

Tominaga, Kentaro, Kenya Kamimura, Kazuya Takahashi, Junji Yokoyama, Satoshi Yamagiwa, et Shuji Terai. « Diversion Colitis and Pouchitis: A Mini-Review ». *World Journal of Gastroenterology* 24, nº 16 (28 avril 2018): 1734-47. https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i16.1734.

Umar, Shahid. « Intestinal Stem Cells ». *Current gastroenterology reports* 12, nº 5 (octobre 2010): 340-48. https://doi.org/10.1007/s11894-010-0130-3.

Veal, Elizabeth A., Alison M. Day, et Brian A. Morgan. « Hydrogen Peroxide Sensing and Signaling ». *Molecular Cell* 26, nº 1 (13 avril 2007): 1-14. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.03.016.

Veen, Annemarthe G. van der, et Hidde L. Ploegh. « Ubiquitin-like Proteins ». *Annual Review of Biochemistry* 81 (2012) : 323-57. https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-093010-153308.

Verma, Smriti, Gayatree Mohapatra, Salman Mustfa Ahmad, Sarika Rana, Swati Jain, Jasneet Kaur Khalsa, et C. V. Srikanth. « Salmonella Engages Host MicroRNAs To Modulate SUMOylation: A New Arsenal for Intracellular Survival ». *Molecular and Cellular Biology* 35, nº 17 (1 septembre 2015): 2932-46. https://doi.org/10.1128/MCB.00397-15.

Vernero, Marta, Federico De Blasio, Davide Giuseppe Ribaldone, Elisabetta Bugianesi, Rinaldo Pellicano, Giorgio Maria Saracco, Marco Astegiano, et Gian Paolo Caviglia. « The Usefulness of Microencapsulated Sodium Butyrate Add-On Therapy in Maintaining Remission in Patients with Ulcerative Colitis: A Prospective Observational Study ». *Journal of Clinical Medicine* 9, nº 12 (4 décembre 2020). https://doi.org/10.3390/jcm9123941.

Vernia, P., R. Caprilli, G. Latella, F. Barbetti, F. M. Magliocca, et M. Cittadini. « Fecal Lactate and Ulcerative Colitis ». *Gastroenterology* 95, nº 6 (décembre 1988): 1564-68. https://doi.org/10.1016/s0016-5085(88)80078-7.

Vernia, P., A. Marcheggiano, R. Caprilli, G. Frieri, G. Corrao, D. Valpiani, M. C. Di Paolo, P. Paoluzi, et A. Torsoli. « Short-Chain Fatty Acid Topical Treatment in Distal Ulcerative Colitis ». *Alimentary*

Pharmacology & Therapeutics 9, nº 3 (juin 1995): 309-13. https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.1995.tb00386.x.

Vernia, P., G. Monteleone, G. Grandinetti, G. Villotti, E. Di Giulio, G. Frieri, A. Marcheggiano, F. Pallone, R. Caprilli, et A. Torsoli. « Combined Oral Sodium Butyrate and Mesalazine Treatment Compared to Oral Mesalazine Alone in Ulcerative Colitis: Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Pilot Study ». *Digestive Diseases and Sciences* 45, nº 5 (mai 2000): 976-81. https://doi.org/10.1023/a:1005537411244.

Vinolo, Marco A.R., Hosana G. Rodrigues, Renato T. Nachbar, et Rui Curi. « Regulation of Inflammation by Short Chain Fatty Acids ». *Nutrients* 3, nº 10 (14 octobre 2011): 858-76. https://doi.org/10.3390/nu3100858.

Wächtershäuser, A., et J. Stein. « Rationale for the Luminal Provision of Butyrate in Intestinal Diseases ». *European Journal of Nutrition* 39, nº 4 (août 2000): 164-71. https://doi.org/10.1007/s003940070020.

Wagner, Kristina, Kathrin Kunz, Tanja Piller, Georg Tascher, Soraya Hölper, Per Stehmeier, Jan Keiten-Schmitz, Markus Schick, Ulrich Keller, et Stefan Müller. « The SUMO Isopeptidase SENP6 Functions as a Rheostat of Chromatin Residency in Genome Maintenance and Chromosome Dynamics ». *Cell Reports* 29, nº 2 (8 octobre 2019): 480-494.e5. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.08.106.

Wang, Hong-Xing, et Yu-Ping Wang. « Gut Microbiota-Brain Axis ». *Chinese Medical Journal* 129, nº 19 (5 octobre 2016): 2373-80. https://doi.org/10.4103/0366-6999.190667.

Wang, Ying, Jie Yang, Kai Yang, Hui Cang, Xin-zhi Huang, Hui Li, et Jing Yi. « The Biphasic Redox Sensing of SENP3 Accounts for the HIF-1 Transcriptional Activity Shift by Oxidative Stress ». *Acta Pharmacologica Sinica* 33, nº 7 (juillet 2012): 953-63. https://doi.org/10.1038/aps.2012.40.

Wang, Weibin, Yifan Chen, Shuya Wang, Ningguang Hu, Zhengyi Cao, Wengong Wang, Tanjun Tong, et Xiaowei Zhang. « PIASxα Ligase Enhances SUMO1 Modification of PTEN Protein as a SUMO E3 Ligase ». *The Journal of Biological Chemistry* 289, nº 6 (7 février 2014): 3217-30. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.508515.

Wang, Yonggang, et Mary Dasso. « SUMOylation and deSUMOylation at a glance ». *Journal of Cell Science* 122, nº 23 (1 décembre 2009): 4249-52. https://doi.org/10.1242/jcs.050542.

Wilson, Nicole R., et Mark Hochstrasser. « The Regulation of Chromatin by Dynamic SUMO Modifications ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 1475 (2016): 23-38. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6358-4_2.

Wotton, David, Lucy F. Pemberton, et Jacqueline Merrill-Schools. « SUMO and Chromatin Remodeling ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 963 (2017): 35-50. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50044-7_3.

Wu, W., M. Takanashi, N. Borjigin, S.-i Ohno, K. Fujita, S. Hoshino, Y. Osaka, A. Tsuchida, et M. Kuroda. « MicroRNA-18a Modulates STAT3 Activity through Negative Regulation of PIAS3 during Gastric Adenocarcinogenesis ». *British Journal of Cancer* 108, nº 3 (février 2013): 653-61. https://doi.org/10.1038/bjc.2012.587.

X, Liu, Chen W, Wang Q, Li L, et Wang C. « Negative Regulation of TLR Inflammatory Signaling by the SUMO-Deconjugating Enzyme SENP6. » *Plos Pathogens* 9, nº 6 (27 juin 2013): e1003480-e1003480. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003480.

Xu J, Liang R, Zhang W, Tian K, Li J, Chen X, Yu T, Chen Q. Faecalibacterium prausnitzii-derived microbial anti-inflammatory molecule regulates intestinal integrity in diabetes mellitus mice *via* modulating tight junction protein expression. J Diabetes. 2020 Mar;12(3):224-236. doi: 10.1111/1753-0407.12986. Epub 2019 Oct 30.

Xu, Zheng, Levina Suk Mi Lam, Lok Hei Lam, So Fun Chau, Tzi Bun Ng, et Shannon Wing Ngor Au. « Molecular Basis of the Redox Regulation of SUMO Proteases: A Protective Mechanism of Intermolecular Disulfide Linkage against Irreversible Sulfhydryl Oxidation ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 22, nº 1 (janvier 2008): 127-37. https://doi.org/10.1096/fj.06-7871com.

Xue, Jianxiang, Linto Thomas, Maryam Tahmasbi, Alexandria Valdez, Jessica A. Dominguez Rieg, Robert A. Fenton, et Timo Rieg. « An Inducible Intestinal Epithelial Cell-Specific NHE3 Knockout Mouse Model Mimicking Congenital Sodium Diarrhea ». *Clinical Science (London, England: 1979)* 134, nº 8 (30 avril 2020): 941-53. https://doi.org/10.1042/CS20200065.

Yan, Shan, Xuxu Sun, Binggang Xiang, Hui Cang, Xunlei Kang, Yuying Chen, Hui Li, *et al.* « Redox Regulation of the Stability of the SUMO Protease SENP3 *via* Interactions with CHIP and Hsp90 ». *The EMBO Journal* 29, nº 22 (17 novembre 2010): 3773-86. https://doi.org/10.1038/emboj.2010.245.

Yavvari, P.S., Verma, P., Mustfa, S.A., Pal, S., Kumar, S., Awasthi, A.K., Ahuja, V., Srikanth, C.V., Srivastava, A., and Bajaj, A. (2019). A nanogel based oral gene delivery system targeting SUMOylation machinery to combat gut inflammation. Nanoscale 11, 4970-4986.

Yu, Yijing, Fitore Raka, et Khosrow Adeli. « The Role of the Gut Microbiota in Lipid and Lipoprotein Metabolism ». *Journal of Clinical Medicine* 8, nº 12 (17 décembre 2019). https://doi.org/10.3390/jcm8122227.

Yue, Yongkang, Fangjun Huo, Songyi Lee, Caixia Yin, et Juyoung Yoon. « A Review: The Trend of Progress about PH Probes in Cell Application in Recent Years ». *The Analyst* 142, nº 1 (19 décembre 2016): 30-41. https://doi.org/10.1039/c6an01942k.

Zabel, U, T Henkel, M S Silva, et P A Baeuerle. « Nuclear uptake control of NF-kappa B by MAD-3, an I kappa B protein present in the nucleus. » *The EMBO Journal* 12, nº 1 (janvier 1993): 201-11.

Zaibi, Mohamed S., Claire J. Stocker, Jacqueline O'Dowd, Alison Davies, Mohamed Bellahcene, Michael A. Cawthorne, Alastair J. H. Brown, David M. Smith, et Jonathan R. S. Arch. « Roles of GPR41 and GPR43 in Leptin Secretory Responses of Murine Adipocytes to Short Chain Fatty Acids ». *FEBS Letters* 584, nº 11 (3 juin 2010): 2381-86. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.04.027.

Zaharia, V., M. Varzescu, I. Djavadi, E. Newman, R. W. Egnor, J. Alexander-Chacko, et A. N. Charney. « Effects of Short Chain Fatty Acids on Colonic Na+ Absorption and Enzyme Activity ». Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology 128, nº 2 (février 2001): 335-47. https://doi.org/10.1016/s1095-6433(00)00318-4.

Zaki, Md Hasan, Kelli L. Boyd, Peter Vogel, Michael B. Kastan, Mohamed Lamkanfi, et Thirumala-Devi Kanneganti. « The NLRP3 Inflammasome Protects against Loss of Epithelial Integrity and Mortality during Experimental Colitis ». *Immunity* 32, nº 3 (26 mars 2010): 379-91. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.03.003.

Zhang, Fu-Ping, Laura Mikkonen, Jorma Toppari, Jorma J. Palvimo, Irma Thesleff, et Olli A. Jänne. « Sumo-1 Function Is Dispensable in Normal Mouse Development ». *Molecular and Cellular Biology* 28, nº 17 (septembre 2008): 5381-90. https://doi.org/10.1128/MCB.00651-08.

Zhang, Jing, Zhishui Chen, Zhiguang Zhou, Ping Yang, et Cong-Yi Wang. « Sumoylation Modulates the Susceptibility to Type 1 Diabetes ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 963 (2017): 299-322. https://doi.org/10.1007/978-3-319-50044-7_18.

Zhao, J. « Sumoylation regulates diverse biological processes ». *Cellular and Molecular Life Sciences* 64, nº 23 (2007): 3017-33. https://doi.org/10.1007/s00018-007-7137-4.

Zhou, Weidong, Jennifer J. Ryan, et Huilin Zhou. « Global Analyses of Sumoylated Proteins in Saccharomyces Cerevisiae. Induction of Protein Sumoylation by Cellular Stresses ». *The Journal of Biological Chemistry* 279, nº 31 (30 juillet 2004): 32262-68. https://doi.org/10.1074/jbc.M404173200.

Zhu, J., M. H. Koken, F. Quignon, M. K. Chelbi-Alix, L. Degos, Z. Y. Wang, Z. Chen, et H. de Thé. « Arsenic-Induced PML Targeting onto Nuclear Bodies: Implications for the Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, nº 8 (15 avril 1997): 3978-83. https://doi.org/10.1073/pnas.94.8.3978.

Zhu, Shanshan, Jacqueline Goeres, Katherine M. Sixt, Miklós Békés, Xiang-Dong Zhang, Guy S. Salvesen, et Michael J. Matunis. « Protection from Isopeptidase-Mediated Deconjugation Regulates Paralog-Selective Sumoylation of RanGAP1 ». *Molecular Cell* 33, nº 5 (13 mars 2009): 570-80. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2009.02.008.

Żółkiewicz, Jakub, Aleksandra Marzec, Marek Ruszczyński, et Wojciech Feleszko. « Postbiotics-A Step Beyond Pre- and Probiotics ». *Nutrients* 12, nº 8 (23 juillet 2020): E2189. https://doi.org/10.3390/nu12082189.

Annexes



Chaima EZZINE - PhD Student and Bioengineer

28 ans
+33638620487
chaima.ezzine@inserm.fr
4 Boulevard Gambetta 76000, Rouen

Langages :

Fluent Fluent Native Basic

TOEIC (815/990)

Current position

2021 **PhD student (3rd)** **"Impact of the gut microbiota on the SUMOylation of intestinal proteins"**
INSERM UMR 1073 (Director : Pr. Pierre Déchelotte) Rouen, France (100 % Doctoral allowance)
(Supervisor : Dr David Ribet, PhD)

University diplomas

2018 **Master degree in Biology and health: Nutrition in health**
Rennes University, France (Rank : 2nd)

2017 **Engineering degree in Biology**
Polytechnic Institute-ULT University, Tunisia

2014 **Bachelor degree in Applied Pharmaceutical Biotechnology**
Higher Institute of Biotechnology Sidi Thabet, Tunisia

Other diplomas :

Animal experimentation certificate (Level 1), Pasteur Institute of Lille, Lille, France
ISO 9001 2008 and 2015 versions, Pyramid consulting, Tunis, Tunisia

Work experiences

2018-2021 **PhD student in biology** **"Impact of the gut microbiota on the SUMOylation of intestinal proteins"**
Nutrition, inflammation and gut-brain axis dysfunction INSERM UMR 1073 (Director: Pr. Pierre Déchelotte)
University of Rouen, Rouen, Frannce

2020-2021 **Technical supervision of 2 Master's students**

2019 **Temporary teacher in Animal Physiology**
University of Rouen Normandy 2019/2020

2018 **Master 2 degree Internship "Impact of the microbiota on ubiquitin like post-translational modifications of intestinal cells"**
INSERM UMR U1073, Rouen, France

2017 **Engineering degree Internship "Impact of iron on a human intestinal microbiota model"**
CIMIAD-NUMECAN "Control of iron metabolism and iron-related diseases", Rennes , France

2016 **Medical assistant**
Doctor's Zoubeir Chatter office, Nutritionist, Tunis, Tunisia

2015 **Quality Control Assistant**
Medical devices, cosmetic and personal hygiene products control department
National Medical Control Laboratory (LNCM) Tunis, Tunisia

2014 **Bachelor degree Internship "Development of an electrochemical biosensor and characterization of a nanovector targeting bacterial lipopolysaccharides "**
Department of Epidemiology and Veterinary Microbiology, Pasteur institute of Tunis, Tunisia

2012 **2nd Bachelor degree Internership**
Department of Animal Health, Veterinary Research Institute of Tunis (IRVT), Tunisia

2012 **Assistant in microbiological quality control**
Microbiology department, National Medical Control Laboratory (LNCM), Tunisia

skills

In vitro experiments

- **Cell culture :**
  Coculture of intestinal cell lines, *in vitro* models of intestinal epithelia (Caco2, T84, HT29-MTX…) usingregular vessels or transwell system
- **Microbiology :**
  Bacteria growt, bacteria numeration and identification, bacteria host-cells coculture

Wet lab experiments

- **RNA, DNA, protein extraction**
  Bradford/BCA assays
  Gel electrophoresis
  RT-qPCR
  Western Blot
- **Transepithelial resistance measurment -Ussing chambers –**
  FITC assay (Intestinal permeability)
  Fluorescence microscopy

In vivo experiments

- **Animal dissection**

Computer skills

Office package

GraphPad Prism

ImageJ

Prezi

Scientific contribution

- **Oral communications :**

  Francophone Nutrition Days 2020, France
  "Modulation of SUMOylation and intestinal inflammation by bacterial metabolites produced by the microbiota"
  Chaima Ezzine, Pierre Déchelotte and David Ribet

- **Publications :**

  Ezzine C, Déchelotte P and Ribet D. **Commensal bacteria modulate host intestinal SUMOylation and inflammation (Manuscript in preparation)**

- **Science popularization :** Fête de la science 2019, Declic 2018

Others activities

- Vice-president of the 1 st student section of engineers in medicine and biology in Tunisia (IEEE EMBS ULT STUDENT BRANCH), Tunisia
- Organization of the "Tunisian Student and Young Professional Congress TSYP 2016(International), Tunisia.
- Organization of the SIDA DAY and NUTRITION DAY, 2015/2016, Tunisia

➢ ***Hobbies***



Abstract

Title : Impact of the gut microbiota on the SUMOylation of intestinal proteins

The gut microbiota produces a wide variety of metabolites, which interact with intestinal cells and modify their activity. Fatty acids such as Short Chain Fatty Acids (SCFAs) and Branched Chain Fatty Acids (BCFAs) constitute a major class of metabolites produced by intestinal bacteria. These fatty acids regulate intestinal cell activities either by modulating the transcription of specific genes or by interfering with post-translational modifications of gut proteins.

SUMOylation is an ubiquitin-like modification consisting in the reversible conjugation of SUMO (Small Ubiquitin-like MOdifier) peptides to target proteins. This modification plays essential roles in intestinal physiology and homeostasis. Some pathogenic bacteria may interfere with intestinal cell SUMOylation. The potential impact of commensal bacteria on this intestinal post-translational modification remains however unknown.

The objectives of this thesis work were (1) to determine whether bacterial metabolites such as BCFAs and SCFAs could modulate intestinal protein SUMOylation and (2) to characterize the impact of these SUMO-regulations on intestinal physiology. We showed that several BCFAs (isobutyric acid, isovaleric acid and 2-methyl-butyric acid) and several SCFAs (acetic acid, butyric acid and propionic acid) increase intestinal protein SUMOylation in different intestinal cell lines.

We demonstrated that the hyperSUMOylation induced by these fatty acids is pH-dependent and results from the passive diffusion of these acids through the plasma membrane of intestinal cells. Once inside cells, BCFAs/SCFAs trigger the inactivation of deSUMOylases (which are enzymes involved in the deconjugation of SUMO) via the induction of an oxidative stress. We observed that the hyperSUMOylation induced by BCFAs/SCFAs mainly affect chromatin-bound proteins. In order to determine the impact of these modifications on intestinal physiology, we focused on the NF-kB signaling pathway, a key player in inflammation known to be regulated by SUMOylation. We demonstrated that the hyperSUMOylation induced by BCFAs/SCFAs blocks the degradation of the inhibitory factor IkBa in response to TNFa, and thus inhibits the activation of the NFkB pathway. These results, for example, in a decrease in pro-inflammatory cytokines expression such as IL8 or CCL20 in response to TNFa, as well as a decrease in epithelial permeability in an in vitro model of intestinal epithelium.

In conclusion, our work shows for the first time that metabolites produced by gut commensal bacteria can regulate intestinal cells activities by modulating SUMOylation. These results illustrate a new mechanism of dampening of inflammatory responses by the microbiota and pave the way for the potential use of these metabolites in the treatment of inflammatory pathologies such as Inflammatory Bowel Diseases (IBD).

Keywords : Gut microbiota, Branched Chain Fatty Acids (BCFAs), Short Chain Fatty Acids (SCFAs), SUMOylation, intestinal inflammation, post-translational modifications, hostbacteria interactions.

Résumé de la thèse

Titre : Impact du microbiote intestinal sur la SUMOylation des protéines intestinales.

Le microbiote intestinal produit une grande variété de métabolites qui peuvent agir sur les cellules de l'épithélium intestinal et modifier leur activité. Les acides gras, tels que les Acides Gras à Chaînes Courtes (SCFA) et les Acides Gras à Chaînes Ramifiées (BCFA), constituent une classe majeure de métabolites produits par les bactéries intestinales. Ces acides gras peuvent réguler les activités des cellules de l'intestin soit en modulant la transcription de gènes spécifiques soit en interférant avec les modifications post-traductionnelles des protéines intestinales.

La SUMOylation est une modification de type ubiquitine consistant en la fixation réversible de peptides SUMO (Small Ubiquitin-like MOdifier) sur des protéines cibles. Cette modification joue un rôle essentiel dans la physiologie et l'homéostasie intestinale. Certaines bactéries pathogènes sont capables d'altérer la SUMOylation des cellules intestinales. L'impact potentiel des bactéries commensales du microbiote intestinal sur cette modification post-traductionnelle reste, lui, inconnu.

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier si des métabolites bactériens comme les BCFA et les SCFA pouvaient moduler la SUMOylation des protéines intestinales et, le cas échéant, de déterminer l'impact de ces modifications sur la physiologie intestinale.

Nous avons montré que plusieurs BCFA (acide isobutyrique, acide isovalérique et acide 2-méthyl-butyrique) et plusieurs SCFA (acide acétique, acide butyrique et acide propionique) augmentent la SUMOylation des protéines de différentes lignées de cellules intestinales. Nous avons démontré que l'hyperSUMOylation induite par ces acides gras était dépendante du pH et résultait de la diffusion passive de ces acides à travers la membrane plasmique des cellules intestinales. Une fois dans les cellules, les BCFA/SCFA entrainent une inactivation des déSUMOylases intestinales (des enzymes impliquées dans la déconjugaison de SUMO) *via* l'induction d'un stress oxydant. Nous avons observé que l'hyperSUMOylation induite par les BCFA/SCFA touche principalement des protéines associées à la chromatine. Afin de déterminer l'impact de ces modifications sur la physiologie intestinale, nous nous sommes focalisés sur la voie de signalisation NF-κB, qui est un acteur clé de la réponse inflammatoire et qui est régulée par la SUMOylation. Nous avons pu montrer que l'hyperSUMOylation induite par les BCFA/SCFA bloque la dégradation du facteur inhibiteur IκBα en réponse au TNFα, inhibant ainsi l'activation de la voie NF-κB. Ceci se traduit par exemple par une diminution de l'expression de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL8 ou CCL20 en réponse au TNFα, et par une diminution de la perméabilité épithéliale dans un modèle *in vitro* d'épithélium intestinal.

En conclusion, ces travaux montrent pour la première fois que des métabolites produits par les bactéries du microbiote intestinal peuvent réguler l'activité des cellules intestinales en modulant la SUMOylation. Ces résultats illustrent un nouveau mécanisme d'inhibition de l'inflammation par le microbiote et ouvrent la voie à une potentielle application de ces métabolites dans le traitement de pathologies inflammatoires comme les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI).

Mots clé : Microbiote intestinal, Acides Gras à Chaînes Ramifiées (BCFA), Acides Gras à Chaînes Courtes (SCFA), SUMOylation, inflammation intestinale, modifications post-traductionnelles, interactions hôte-bactéries.