

CURRICULUM VITAE

Nom/ Prénom	PARAT Fabrice
Date de naissance	07 décembre 1965
Ministère d'affectation	Education Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Laboratoire	INP: Institut de NeuroPhysiopathologie UMR 7051 CNRS (AMU-TIMONE)
Corps/Grade	Technicien de Recherche et Formation Classe Exceptionnelle
Emploi occupé	Assistant en techniques biologiques et enseignements

EXPERIENCE PROFESSIONNELLE

9 publications en tant que co-auteur 2 sous presse (présentation des 4 dernières)

- 2020** (sous presse) Chocry M. et al. Gemcitabine: an alternative treatment for oxaliplatin-resistant colorectal cancer.
- 2020** (sous presse) Pagano A. et al. The Microtubule-associated protein Tau as a new putative therapeutic target in brain cancers.
- (A1) 2019.** Breuzard G. et al. Tau regulates the microtubule-dependent migration of glioblastoma cells via the Rho-ROCK signaling pathway. *J Cell Sci.*
- (A2) 2016.** Mousslim M. et al. Peptide screen identifies a new NADPH oxidase inhibitor: impact on cell migration and invasion. *Eur J Pharmacol.*
- (A3) 2012.** Faure E. et al. P2Y2 receptor inhibits EGF-induced MAPK pathway to stabilise keratinocyte hemidesmosomes. *Journal of Cell Science.*
- (A4) 2010.** Taboubi S. et al. Activated Gαq inhibits p110α PI3K subunit, impact on keratinocyte migration. *Mol Biol Cell.*

Techniques maîtrisées

- Culture cellules souche (glioblastomes/U87): inclusion des sphéroïdes en OCT + coupe au cryostat
- Culture cellules d'adénocarcinomes colique (HT29, Caco2...)
- Préparation et obtention de lignées stables -> invalidation de gènes par technique ShRNA ou CRISPR/Cas9
- Expertise in vivo (niveau A et B + chirurgie expérimentale) -> xénogreffe orthotopique chez la souris
- Coupes des cerveaux en paraffine au microtome et coloration hématoxyline/éosine
- Microscopie Confocale -> Prise de clichés de différents types cellulaires de glioblastomes U138, U87, U118...
- Etude des voies de signalisation AKT/PI3K et ERK1,2 à l'aide de techniques de biologie cellulaire et immunologique
- Production de protéines recombinantes dans différents systèmes d'expression
- Purification de protéines : échange d'ions, affinité
- Test adhérence cellulaire sur protéines purifiées
- Immunoprécipitation - PAGE/SDS - immunotransfert – Immunofluorescence - Cytométrie en flux - tri cellulaire
- Construction d'ADN recombinants (clonage, purification et analyses, culture et transformation bactérienne...)
- Optimisation des techniques de transfection (CaCl2, lipofectamine, nucléofection)
- Migration en WH sur différentes MEC et vidéomicroscopie

FORMATION

Année d'obtention	Établissement	Diplôme, titre ou certificat obtenu
Octobre 2019	Faculté Médecine AMU	Master Biologie Santé option Oncologie
Mai/Juin 2015	Faculté Pharmacie AMU	Diplôme d'Etudes Supérieures Universitaire Niveau B Expérimentation animale + Certificat en Chirurgie expérimentale (2016)
Juin 1994	LTCB St-Marcel Marseille	BTS d'Analyses Biologiques et Biochimiques + Certificat de préleveur

Dates	Organisme de formation	Formation suivie (de la plus récente à la plus ancienne)
02/03/2017	INSERM	APAFis : nouvelle procédure dématérialisée des autorisations de projets du MENESR
03/12/2014	INSERM	Bonnes pratiques en recherche animale
Octobre 2000	Université d'Automne	Génétique Moléculaire et Génie Génétique
Juin 1993	CNRS-URA 1924	Stage de Technicien de Recherche en Bioch. /Biologie Cellulaire

DIVERS

- **Expertise professionnelle (2003)** : Membre au jury de recrutement au poste d'adjoint technique Université Claude-Bernard LYON I (organisation, correction de l'épreuve et audition des candidats).
- **Activité humanitaire** : bénévole à Santé Sud : installation de laboratoires + interventions en qualité de formateur de technicien de laboratoire en analyses biologiques dans des missions à l'étranger (Mongolie, mali).
- **Badminton** : Compétiteur (Airbus Hélicopters Marignane), arbitre national.
- **Membre associatif** : réhabilitation Etang de Berre, syndicat des arrosants à St-Chamas.
- **Apiculteur**

RAPPORT D'ACTIVITE

PARCOURS EN LABORATOIRE DE RECHERCHE (Avril 1996 à ce jour)

Institut NeuroPhysiopathologie CNRS UMR 7051

Directeur M. Khrestchatisky, Faculté de Médecine, Marseille.

Equipe Cytosquelette et Neurophysiopathologie

Biologie cellulaire

- Culture et différenciation cellulaire in vitro de lignées tumorales ou normales humaines (HaCaT, HT29, CaCo2...)
- Culture de sphéroïdes (U87), inclusion en OCT et coupe au cryostat
- Expression et localisation de la N-cadhérine et des protéines associées dans les sphéroïdes
- Etude de la structure des intégrines par immunoprécipitation après marquage de surface par la biotine
- Migration de kératinocytes étalement et quantification de la surface cellulaire, tests en blessure cicatrisation
- Tests de viabilité cellulaire

Biochimie cellulaire

- Immunoprécipitation, électrophorèse en PAGE/SDS, immunotransfert, immunofluorescence
- Etude des voies de signalisation AKT/PI3K et ERK1,2 à l'aide de techniques de biologie cellulaire et immunologique.
- Transfection des cellules HEK T-293, production de la protéine recombinante Fc-MAG et purification de la Fc-MAG par affinité sur colonne de Protéine A-Sépharose
- Production chez E.Coli de protéines recombinantes en fusion avec la **Glutathione-S-Transférase** et purification par affinité sur colonne Glutathione-Sépharose
- Dosage de l'activité de petites protéines G de la famille de RhoA par la précipitation des formes actives (liées au GTP) à l'aide des domaines de protéine effectrice fusionnée à la GST
- Production et purification de protéines Rho-GTPase fusionnées à des séquences peptidiques dites "cargo" (TAT ou pénétratine)
- Construction des protéines GST-"cargo"-Rho, purification sur colonne d'affinité à la glutathione et évaluation de l'activité biologique (mesure de l'internalisation et tests fonctionnels)
- Mise en évidence par immunoprécipitation de complexes entre pro-sous-unité α des intégrines et pro-protéines convertases dans le réticulum endoplasmique
- Immunofluorescence et cytométrie en flux
- Production de la protéine recombinante Fc-Cadhérine et purification de la Fc-Cadhérine par affinité sur colonne de Protéine A-Sépharose

Biologie moléculaire

Modulation de l'expression de Gènes:

- Purification et cartographie par digestion de plasmides, construction de nouveaux plasmides par digestion/ligation
- Optimisation des techniques de transfection au CaCl_2 , lipofectamine et nucléofection avec système AMAXA™
- Tri cellulaire après transfection de protéines fusionnées à la *GFP*
- Mise au point de la technique de "Gene silencing" à l'aide de siRNA (effet dose et cinétique) ou à l'aide de ShRNA
- Invalidation de gènes par technique CRISPR/Cas9 (sélection de transfectants stables)

Validation in vivo chez le rongeur

- Greffe xénogéniques/syngéniques orthoptiques intracrâniale
- Prélèvements sanguins chez le petit animal en rétro-orbitale/intracardiaque/sous-maxillaire
- Injection sous-cutanée de cellules tumorales, suivi de croissance tumorale et entretien d'animaux

Imagerie

Microscopie photonique :

- Mesure de l'impact des agents purinergiques sur la morphologie (étalement et quantification de la surface cellulaire) et la migration (chambre de Boyden) de kératinocytes
- Observation des préparations en microscopie photonique (en fond clair, en contraste de phase ou en fluorescence) – prise de clichés
- Analyses des paramètres morphométriques des cellules, avec les logiciels *ImageJ*, *Métamorph®* ou *CaloPix*

Vidéo microscopie :

- Mesure de la vitesse de migration en "blessure/cicatrisation" et en "migration cellule isolée" sur diverses matrices extracellulaires à l'aide du logiciel *Métamorph®*
- Technique d'immunofluorescence et observation sur microscope à épifluorescence, mesure de paramètres morphométriques des cellules avec le logiciel *CaloPix*, étude dynamique des cellules par vidéo-microscopie

Microscopie Confocale :

- Prise de clichés de différents types cellulaires de glioblastomes U138, U87, U118...
- Expression et localisation de la N-cadhérine et des protéines associées dans les sphéroïdes

Participation à diverses études

- Etude de la biosynthèse et de la maturation de l'intégrine $\alpha\beta4$ et de son association avec une protéine chaperonne : la calnexine (fractionnement cellulaire, solubilisation différentielle des cellules digitonin/NOG).
- Mise au point et transfection d'oligonucléotides antisens des différentes isoformes des PKC sur des kératinocytes en monocouche.
- Purification d'une protéine de la matrice extracellulaire (vitronectine) par affinité sur colonne d'héparine à partir de plasma humain.

Expertise professionnelle

Membre au jury de recrutement au poste d'adjoint technique Université Claude-Bernard LYON I (organisation, correction de l'épreuve et audition des candidats)

Contribution à l'activité du service

- Gestion des stocks de cellules eucaryotes (cryocongélation) et des différents clones de bactéries portant des plasmides d'intérêt
- Gestion et contrôle qualité de la stérilisation du matériel de culture cellulaire et de la verrerie par autoclavage
- Prise en charges de la formation des personnes du service ou extérieures à l'utilisation de différents appareillage (Press de French, centrifugeuse haute vitesse...)
- Formation des stagiaires aux techniques maîtrisées
- Participation à la mise en place et suivi des travaux pratiques en Licence II (filière Biologie) et en Master I (filière Biologie Moléculaire)

2019 (sous presse) Chocry et al. [Gemcitabine: an alternative treatment for oxaliplatin-resistant colorectal cancer](#)

2019 (sous-press) Pagano, A., Breuzard, G., **Parat, F.**, Tchogandjian, A., Garrouste, F., T. De Bessa, T., Peyrot, V., Barbier, P., and Kovacic, H. [The Microtubule-associated protein Tau as a new putative therapeutic target in brain cancers.](#)

(A9) 2018. Breuzard, G., Pagano, A., Bastonero, S., Malesinski, S., **Parat, F.**, Barbier, P., Peyrot, V., Kovacic, H. [Tau regulates the microtubule-dependent migration of glioblastoma cells via the Rho-ROCK signaling pathway. *J Cell Sci.* 2019 Feb 11; 132\(3\).](#)

(A8) 2016. Mousslim, M., Pagano, A., Andreotti, N., Garrouste, F., Thuault, S., Peyrot, V., **Parat, F.**, Luis, J., Culcasi, M., Thétiot-Laurent, S., Pietric, S., Sabatier, JM., Kovacic, H. [Peptide screen identifies a new NADPH oxidase inhibitor: impact on cell migration and invasion. *Eur J Pharmacol.* 2016 Oct 12; 794:162-172](#)

(A7) 2012. Faure, E., Garrouste, F., **Parat, F.**, Monferran, S., Leloup, L., Pommier, G., Kovacic, H., Lehmann, M. [P2Y2 receptor inhibits EGF-induced MAPK pathway to stabilise keratinocyte hemidesmosomes. *Journal of Cell Science* 2012 May; 125, 4264-4277](#)

(A6) 2010. Taboubi, S., Garrouste, F., **Parat, F.**, Sadok, A., Monferran, S., Pommier, G., Pankow, S., Kovacic, H., Lehmann, M. [Activated Gαq inhibits p110α PI3K subunit, impact on keratinocyte migration. *Mol Biol Cell.* 21\(6\):946-55](#)

(A5) 2007. Taboubi, S., Milanini, J., Delamarre, E., **Parat, F.**, Garrouste, F., Pommier, G., Takasaki, J., Hubaud, JC., Kovacic, H., and Lehmann, M. [Gα\(q/11\)-coupled P2Y2 Nucleotide Receptor Inhibits Human Keratinocyte Spreading and Migration. *FASEB J.* 21\(14\):4047-58](#)

(A4) 2005. Laforest, S., Milanini, J., **Parat, F.**, Thimonier, J., and Lehmann, M. [Evidences that β1 integrin and Rac1 are involved in the overriding effect of laminin on Myelin Associated Glycoprotein inhibitory activity on neuronal cells. *Mol. Cell. Neurosci.* 30 418-428](#)

(A3) 2000. Lissitzky, J-C., Luis, J., Munzer, J.S., Benjannet, S., **Parat, F.**, Chrétien, M., Marvaldi, J., and Seidah, N.G. [Endoproteolytic processing of integrin pro-α subunits involves the redundant function of furin and proprotein convertase \(PC\)5A, but not paired basic amino acid converting enzyme \(PACE\) 4, PC5B or PC7. *Biochem. J.* 346, 133-138](#)

(A2) 1999. André, F., Rigot, V., Thimonier, J., Montixi, C., **Parat, F.**, Pommier, G., Marvaldi, J. and Luis, J. [Integrins and E-cadherin cooperate with IGF-1 to induce migration of epithelial colonic cells. *Int. J. Cancer:* 83: 497-505](#)

(A1) 1998. Lehmann, M., André, F., Remacle-Bonnet, M., Garrouste, F., **Parat, F.**, Lissitsky, J.C., Marvaldi, J. and Pommier, G. [Deficient processing and activity of type I insulin-like growth factor receptor in the furin-deficient LoVo-C5 cells. *Endocrinology:* 139: 3763-71](#)

COMMUNICATIONS A DES CONGRES SCIENTIFIQUES

ELSO Meeting 2008 - Nice: Monferran, S., Faure, E., Garrouste, F., **Parat, F.**, Leloup, L., Pommier, G., Kovacic, H., Lehmann, M. [“Extracellular nucleotides inhibit MEK activation by EGF and reverse the EGF-induced disassembly of hemidesmosomes in keratinocytes”.](#)

ELSO Meeting 2007 - Dresden: Taboubi, S., Milanini, J., Delamarre, E., **Parat, F.**, Garrouste, F., Pommier, G., Takasaki, J., Hubaud, JC., Kovacic, H., and Lehmann, M. [“P2Y2 inhibits PI3K activation by IGF-I. A new crossregulation between RTK and GPCR that controls keratinocytes spreading and migration”.](#)

C1 XV^{ème} CECED (Club d'Etude des Cellules Epithéliales et Digestives) 1997 – Lyon:

Rigot, V., Lehmann, M., Luis, J., **Parat, F.**, Lissitzky, J-C., Marvaldi, J. [“Biogenèse de l'intégrine α6β4 dans un adénocarcinome colique humain, HT29D4, implication de la calnexine”.](#)

POSTERS

(2017) **Congrès EuroTau meeting Lille:** G. Breuzard, A. Pagano, S. Bastonero, S. Malesinski, **F. Parat**, P. Barbier, V. Peyrot and H. Kovacic. “Tau governs cross-talk of microtubule and actin cytoskeletons necessary for cell migration in glioblastoma”.

(2016) **14^{ème} Journée de la Recherche de la Faculté de Pharmacie de Marseille:** Heurté, D., Pagano, A., Chocry, M., **Parat, F.**, Kovacic, H. “Rôle de Nox5 dans la différenciation cellulaire dans le cancer colorectal et dans la résistance aux traitements de chimiothérapie”.

(2015) **7ème Colloque Cancéropole PACA Marseille:** Chocry, M., Leloup, L., **Parat, F.**, Kovacic, H. “Involvement of calpain/Nox1 pathway in the resistance of colorectal tumor cells to oxaliplatin”.

(2014) **5ème Colloque du club d'adhérence cellulaire Marseille:** Mousslim M, Pagano A, Thuault S, Luis J, **Parat F**, Culcasi M, Andreotti N, Pietri S, Sabatier JM, Kovacic H. “NF02, an anion superoxide production peptide modulator inhibits cell migration and invasion in colon cancer cells”.

ENCADREMENT TECHNIQUE (Étudiants et stagiaires)

2018	Fanny Hollier-Larousse , Master2 de Pathologie Humaine/Oncologie, AMU.
2016	Delphine Heurté , pharmacienne doctorante en Pathologie Humaine/Oncologie, AMU.
2016	Mathilde Bouvet , L3 Biologie Humaine et Biotechnologies AMU.
2015	Bérangère Olive , Licence de science mention Biologie L3 BHB.
2011-2014	Mohamed Mousslim , doctorant en Pathologie Humaine/Oncologie AMU.
2008-2011	Emilie Faure , doctorante en Biologie des eucaryotes, Aix-Marseille I.
2007	Céline Ferreira , 3 ^{ème} année d'étude d'ingénieur en Biotechnologie à l'ESIL.
2005-2010	Amine Sadok , doctorant en oncologie, pharmacologie/thérapeutiques, Université Aix-Marseille II
2005-2010	Salma Taboubi , doctorante Biologie des eucaryotes, Aix-Marseille I.
2002	Antoine Champagne , stage DEUG Science de la Vie-filière Biostage, Université des Sciences et Technologies de Lille.
2000-2004	Sullivan Lafortest , doctorant en oncologie, Aix-Marseille II.
2000-2001	Magali Conesa , DEA Biologie des eucaryotes, Aix-Marseille II.
1999-2000	Fabienne Alfonsi , Stage de Licence : <i>Biochimie et de Biologie Cellulaire</i> .
1996-1997	Chrystelle Massa , stage de recherche dans le cadre d'un diplôme d'université PREMICE, spécialité Microbiologie (Aix-Marseille II).

ACTIVITES PEDAGOGIQUES (Collaboration avec les maîtres de conférences)

DEPUIS 1995

Master de Biologie Cellulaire et Physiologie mention biologie générale
Travaux pratiques de Biologie Moléculaire

L3 de Sciences Naturelles
Travaux pratiques de Biologie Moléculaire
« *Connaissances et Techniques du Gène* » (CTG1 et CTG2)