

14^e Colloque Réplication-Réparation-Recombinaison : des mécanismes moléculaires aux applications cliniques.

BILAN

May 10-13, 2022
Presqu'île de Giens, France

14th 3R Meeting



Keynotes:

Andres Aguilera
Michelle Debatisse
Susan Gasser

François-Xavier Barre
Doug Bishop
Jean-Baptiste Charbonnier
Chunlong Chen
Ludovic Deriano
Emmanuelle Fabre
Corine Grey
Romain Koszul
Philippe Pasero
Sophie Polo
Olivier Sordet
Terence Strick

Organizing Committee: Josée Guirouilh-Barbat - Valérie Borde - Anna Campalans - Françoise Dantzer - Olivier Espeli - Sarah Lambert - Gaëlle Legube - Bertrand Lorente - Françoise Ochsenbein - Benoit Palancade

Replication - Repair - Recombination From Molecular Mechanisms to Clinical Applications





Contexte

Le 14^{ème} colloque Réplication-Réparation-Recombinaison (communément appelé le meeting des « 3R ») s'est déroulé du 10 au 13 Mai 2022 à la presqu'île de Giens. Ce colloque, organisé tous les deux ans depuis 1995, rassemble l'ensemble de la communauté scientifique française qui étudie la biologie des génomes. Cette communauté s'intéresse aux mécanismes de la réplication, de la réparation et de la



Lieu du congrès : Club Belambra, presqu'île de Giens

recombinaison de l'ADN, depuis leurs rôles fondamentaux dans le maintien de la stabilité des génomes à leurs dérégulations dans des situations pathologiques telles que le cancer car nombre de ces mécanismes agissent comme des suppresseurs de tumeurs. Ce colloque est aussi une occasion unique pour les jeunes chercheurs/chercheuses de cette communauté de présenter et de discuter de leurs travaux devant une assemblée spécialisée et internationale. Avec les restrictions imposées par la pandémie du COVID-19, cette quatorzième édition n'a pas pu se tenir en 2021. C'est donc après une pause de 3 ans que la communauté française travaillant sur la biologie des génomes a eu le grand plaisir de se retrouver, avec 237 participants.

Avec la participation de scientifiques étrangers de renommée internationale, 12 conférenciers français invités et plus de 30 conférences, ce colloque a permis d'aborder des questions fondamentales sur le rôle des mécanismes des 3R dans la prévention de l'instabilité des génomes mais aussi dans la génération des réarrangements génomiques programmés tels que ceux nécessaires à la diversité de la réponse immunitaire ou lors de la recombinaison méiotique. Une des richesses de ce colloque a été d'adresser ces questions fondamentales sur la transmission, la stabilité et les modifications des génomes à travers une grande diversité d'organismes cellulaires (des bactéries à l'homme, en passant par des modèles cellulaires tels que la paramécie). De nombreuses conférences ont permis d'aborder comment les dérégulations des mécanismes

touchant la réplication, la réparation et la recombinaison des génomes contribuent à certaines pathologies humaines, notamment dans le contexte de cancers du sein issus d'une déficiente en BRCA1 ou BRCA2. Suite à l'accumulation de stress de réplication, bon nombre de types tumoraux deviennent addictifs à certains mécanismes de réparation/réplication qui sont alors des talons d'Achille potentiels. Ce colloque a fait émerger des acteurs des mécanismes des 3R comme de nouvelles cibles thérapeutiques anti-cancéreuses.



Les participants du meeting des 3R 2022

Douze conférenciers français invités (François-Xavier Barre, I2BC, Gif sur Yvette; Jean-Baptiste Charbonnier, I2BC, Gif sur Yvette; Chunlong Chen, Institut Curie, Paris; Ludovic Deranio, Institut Pasteur, Paris; Emmanuelle Fabre, Hôpital Saint Louis, Paris; Corine Grey, IGH, Montpellier; Romain Koszul, Institut Pasteur, Paris ; Philippe Pasero, IGH, Montpellier; Olivier Sordet, CRCT, Toulouse et Terence Strick, ENS Paris) ont présenté leurs travaux les plus récents. Le Pr Doug Bishop n'a pas pu participer au congrès étant cas contact, et le Dr Angela Taddei (Institut Curie, Paris) l'a remplacé au pied levé. Sur la base des résumés soumis au comité d'organisation, 19 conférenciers ont été

sélectionnés, essentiellement de jeunes chercheurs, doctorants ou post doctorants, afin de leur donner l'opportunité de présenter, souvent pour leur la première fois, leurs travaux dans un congrès d'envergure (voir photo des orateurs).

**Les orateurs du colloque des 3R
2022**



Un comité d'organisation, issu de différents instituts de recherche français, a pour mission d'établir le programme scientifique du colloque et de coordonner l'organisation logistique de l'événement. Ce comité est en charge de lever les financements nécessaires et d'assurer la promotion de cet événement scientifique tant sur le plan national qu'international. Le comité est composé de :

- Josée Guirouilh-Barbat, Institut Cochin, Paris
- Valérie Borde, Institut Curie, Paris
- Anna Campalans, CEA, Fontenay-aux-Roses
- Françoise Dantzer, Université de Strasbourg, Illkirch
- Olivier Espéli, Collège de France, Paris
- Sarah Lambert, Institut Curie, Orsay
- Gaëlle Legube, CBI, Toulouse
- Bertrand Llorente, CRCM, Marseille
- Françoise Ochsenein, CEA, I2BC, Saclay
- Benoit Palancade, Institut Jacques Monod, Paris.



Déroulement et faits marquants

Le colloque a rassemblé 237 chercheurs académiques, étudiants et post-doctorants, en provenance de France, d'Espagne, d'Angleterre, de Suisse, des Etats-Unis, et d'Allemagne. Sept sessions plénières, en Anglais, ont été organisées (voir le programme détaillé en annexe 1) pour aborder les thèmes suivants :

- RNA and the 3R
- Mechanisms of Recombination and Repair
- Chromatin and genome Stability
- Replication and Replication Stress
- Structural biology and Single Molecule in 3R
- Nuclear Organization and chromosome dynamics
- Genome Maintenance and Diseases

Le colloque a démarré par la prestigieuse conférence d'ouverture du Pr Andres Aguilera (CABIMER, Séville, Espagne, voir photo ci-contre) qui est reconnu internationalement pour ses travaux sur les collisions entre les machineries de transcription et de réplication et leurs conséquences sur la stabilité des génomes. Ce type de collision est assez rare dans des cellules non transformées mais leur fréquence augmente avec la transformation cellulaire, notamment lorsque des stress répliatifs surviennent suite à l'expression de différents oncogènes. L'activité de transcription est associée à la formation de structures d'ADN particulières, nommées « R-loops », au sein desquelles, l'ARN naissant s'hybride



Conférence du Pr Andres Aguilera, CABIMER, Séville, Espagne.

au brin d'ADN matrice, déplaçant le brin d'ADN complémentaire sous forme simple brin. Les R-loops sont des éléments régulateurs de l'expression des génomes mais leur abondance, associée à la machinerie de transcription, conduisent à entraver la progression des fourches de réplication et mettre en péril la stabilité des génomes. Le Pr Andrés Aguilera a présenté ses récents travaux sur le rôle des remodeleurs et des modificateurs de la chromatine dans la gestion des conflits transcription-réplication en limitant la formation des R-loops.

La deuxième journée a démarré par la thématique des mécanismes de recombinaison et de réparation. La post-doctorante Camille Gélot (Laboratoire de Raphaël Cicali, Institut Curie, Paris) a exposé ses récentes découvertes portant sur le rôle de l'ADN polymérase Theta dans la réparation des cassures double-brin en mitose notamment dans un contexte de déficience en BRCA2. Ces travaux prometteurs ouvrent des perspectives thérapeutiques dans la prise en charge des cancers du sein associés à une déficience en recombinaison homologue. La deuxième session portant sur la thématique « Chromatine et Stabilité des génomes » a aussi mis l'honneur l'ADN polymérase Theta par Ophélie Martin (University of Sussex, UK, du laboratoire de Evi Soutoglou) qui a présenté des résultats sur le rôle de la polymérase Theta dans la balance réparation fidèle/infidèle dans des cellules souches embryonnaires. Cette deuxième journée s'est achevée par la session « Réplication et Stress réplicatif » avec une conférence Keynote par la Pr Michelle Debatisse (Institut Gustave Roussy, Villejuif) sur les mécanismes moléculaires qui gouvernent l'instabilité des sites fragiles chez l'homme. Un autre point d'orgue de cette session fut l'intervention du Dr Philippe Pasero (IGH, Montpellier) qui a présenté ses travaux sur le rôle du facteur Mre11 dans la senescence induite par l'expression d'oncogènes en reliant le stress réplicatif à la réponse inflammatoire. Ces résultats ouvrent à nouveau de nouvelles pistes thérapeutiques anti-cancéreuses.

La troisième journée fut consacrée à la biologie structurale et les approches en molécule unique dans la biologie des 3R avec des travaux remarquables mettant en lumière des interactions protéiques pivot dans la réaction de réparation par « *Non Homologous End Joining* » (Jean-Baptiste Charbonnier, I2BC, Gif sur Yvette), le mode d'action des inhibiteurs de PARP1 résolu par microscopie à haute résolution (Eli Rothenberg, NYU school of medecine, USA) et la formation des R-loops causée par des pauses de transcription en molécule unique (Terence Strick, ENS, Paris). La

deuxième session de cette journée s'est focalisée sur l'organisation nucléaire et la dynamique des chromosomes, avec une conférence portant sur la contribution de l'organisation tridimensionnelle des chromosomes sur le mécanisme de réparation par la recombinaison homologe chez la levure (Emmanuelle Fabre, Hôpital Saint Louis, Paris), suivi d'une présentation nous éclairant sur le rôle des briques élémentaires du



**Conférence du Pr Olivier Sordet
CRCT, Toulouse**

génomique sur la configuration tridimensionnelle de la chromatine en utilisant des approches de biologie synthétique (Romain Koszul, Institut Pasteur, Paris). La partie scientifique du congrès s'est clôturée avec la session « Maintien des génomes et maladies » avec d'une part une présentation de Ludovic Déranio (Institut Pasteur, Paris) sur les mécanismes de réparation mis en jeu au cours de la lymphogénèse et d'autre part une présentation de Stéphane Coulon (CRCM, Marseille) sur l'identification de nouvelles mutations pathologiques affectant l'homéostasie des télomères (téloméropathies). Enfin le Pr Olivier Sordet (CRCT, Toulouse) nous a exposé ses récents travaux sur l'incidence des cassures double-brin issues de l'activité de transcription dans certaines maladies neurodégénératives.

Le colloque s'est clôturé par la prestigieuse conférence de clôture donnée par la Pr Susan Gasser (Friedrich Miescher Institute for



**Conférence du Pr Susan Gasser
FMI, Suisse**

Biomedical Research, Suisse) portant sur une surprenante fonction des remodeleurs de la chromatine et l'actine dans la génération de cassures double-brin. L'ensemble du congrès a été ponctué de présentations par de jeunes chercheurs, toutes excellentes et remarquables de par la nouveauté et l'originalité des résultats obtenus.



Le colloque s'est achevé par un dîner de gala, suivi de sa traditionnelle soirée dansante, opportunité pour chacun d'exprimer d'autres talents.



Les sessions posters et les prix

Dans sa tradition, ce colloque est attaché à donner un espace de temps important aux présentations sous forme de poster. Un peu plus de 120 posters furent présentés durant quatre sessions de huit heures au total. Grâce au soutien de nos sponsors, 6 prix ont récompensé les meilleurs posters. Trois prix ont été remis au nom de la société Française de Génétique (SFG) à :

- Raphaël MANGIONE pour son travail portant sur « *Systematic screen unveils replication defects as a source of DNA:RNA hybrids* » sous la direction de Benoit PALANCADE à l'institut Jacques Monod à Paris.
- Boubou DIAGOURAGA pour son travail sur « *SMC-Condensin complexes and meiotic homologous recombination in the mouse* » sous la direction de Thomas ROBERT au centre de biologie structurale à Montpellier.
- Coralie ZANGARELLI pour son travail sur « *Temporal control of programmed DNA elimination and genome endoreplication in the ciliate Paramecium* » sous la direction de Mireille BETERMIER et Vinciane REGNIER à l'institut de biologie intégrative, I2BC, à Gif sur Yvette.



Les prix poster de la SFG. En haut, de gauche à droite : Cyril RIBEYRE (secrétaire Général de la SFG), Benoit PALANCADE (membre du comité d'organisation). Bas : Coralie ZANGARELLI, Mireille BETERMIER, Raphaël MANGIONE et Boubou DIAGOURAGA.

Le prix poster du comité des 3R a été décerné à

- Nicolas BIGOT pour son travail sur « *O-linked beta-N-acetylglucosaminylation regulates chromatin relaxation after DNA Damage* » sous la direction de Sébastien Huet à l'institut de génétique et développement de Rennes.



Le prix poster du comité des 3R. De gauche à droite : Sarah LAMBERT (comité d'organisation), Nicolas BIGOT, Sébastien HUET, et les membres du comité Françoise OCHSENBEIN, Olivier ESPELI, Gaëlle LEGUBE, Josée GUIROUILH-BARBAT.

Pour la première fois, un prix poster a été décerné au nom de la fondation ARC à :

- Mégane DA MOTA pour son travail portant sur « Regulation of fork processing and restart by condensin upon replication stress » sous la direction de Armelle Lengronne à l'institut de génétique humaine à Montpellier.

Le prix poster de la Société Française du Cancer (SFC) a été décerné à :

- Luana CINTORI pour son travail portant sur « *Study of the management of targeted oxidative damage to DNA* » sous la direction de Yvan Canitrot, CBI, Toulouse. Le but de ce projet de thèse est de mettre au point un outil cellulaire qui permet de générer des dommages oxydatifs de façon ciblée sur l'ADN grâce à l'utilisation de système CRISPR/Cas9 associé à une protéine qui génère des ROS. Les dommages oxydatifs sont une source majeure d'instabilité génétique, elle-même mise en cause dans les phénomènes de cancérogénèse. L'outil proposé va permettre d'obtenir des informations importantes sur les mécanismes sous-jacents à l'apparition de mutations. De plus, de nombreux traitements anti-cancéreux induisent des dommages oxydatifs. La réponse à ces dommages à la fois par les cellules cancéreuses et saines influence donc l'efficacité de ces traitements, d'où l'importance de l'étudier.



Le prix poster de la fondation ARC et de la société française du Cancer. De gauche à droite : Armelle Lengronne (IGH, Montpellier), Luana Cintori (CBI, Toulouse), Meganne Da Mota (IGH, Montpellier), Patricia Kannouche (IGR, représentante de la SFC), Sarah LAMBERT (comité d'organisation).



Bilan budgétaire et sponsors.

Comme pour les éditions précédentes, le bilan financier du colloque est à l'équilibre. Le comité d'organisation est attaché à maintenir des frais d'inscription abordables pour les jeunes chercheurs/chercheuses grâce au soutien des différents sponsors. Les recettes comprennent deux grands secteurs distincts : les inscriptions des participants et les ressources extérieures issues de nos sponsors. Le comité d'organisation tient à remercier :

BGI Genomics

Cancer Research for PErsonalized Medicine (CARPEM)

Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA).

Division de la Recherche Fondamentale (DRF)

Programme de Radiobiologie

CYTIVA

Dynamic Biosensors

EMBO

Fondation ARC pour la Recherche sur le Cancer

GENOMIC VISION

Institut Jacques Monod

Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC)

LABEX Descartes Who am I

La LIGUE contre le cancer

LUMICKS

NOVOGENE

PROMEGA

Société française du cancer (SFC)

Société française de génétique (SFG)

SIRIC SOCRATE Institute Gustave Roussy (IGR)





En résumé

La quatorzième édition du colloque Réplication-Réparation-Recombinaison a remporté un vif succès avec une adhésion importante de la communauté des 3R. Ce colloque est une opportunité exceptionnelle pour cette communauté d'échanger et de discuter des avancées de la recherche dans cette thématique, tant sur le plan cognitif et fondamental que sur le plan des applications potentielles en santé, notamment en biologie du cancer. La prochaine édition est prévue pour 2024 avec un comité d'organisation en partie renouvelé.

Annexe : programme scientifique

Day 1: Tuesday May 10, 2022

14:00-16:00 Welcome

16:20 – 18:20 Session 1: RNA and the 3R

(chair: Benoit Palancade & Sarah Lambert)

16:20-16:30 Introduction

16:30- 17:15 Keynote Opening Conference. The EMBO LECTURE

Andres Aguilera, Cabimer, Sevilla, SP

"Role of chromatin remodeling and modification at transcription-replication conflicts and upon replication stress"

17:15 - 17:35 **Clara Bonnet**, Institut Curie, Orsay, FR

"53BP1 is an RNA Binding Protein that interacts with Okazaki fragments"

17:35 - 17:55 **Umberto Aiello**, Institut Jacques Monod, Paris, FR

"Sen1 is a master regulator of transcription-driven conflicts"

17:55 – 18:15 **Florian Saur**, CBI, Toulouse, FR

"DSB-induced RNA:DNA hybrid accumulation arises from transcriptional repression and helps resection"

18:15 – 18:20 **Presentation of the SFG** (Société Française de Génétique)

Cyril Ribeyre, IGH, Montpellier, FR

19:00-20:00 Dinner

20:00-22:00 Poster Session I: poster numbers 1-63

Day 2: Wednesday May 11, 2022

8:30 – 10:20 Session 2: Mechanisms of Recombination and Repair

(chair: Bertrand Llorente & Valérie Borde)

8:30 – 8.55 **Doug Bishop**, University of Chicago, US (invited speaker)

"Analysis of RPA function in Dmc1-mediated meiotic recombination by biochemical reconstitution and cytology"

8:55 – 9:15 **Chloé Dupont**, CEA, Fontenay-aux-Roses, FR

"Structural model for the complexes of Rad51 paralogs SHU and Rad55-Rad57 interacting with the Rad51 nucleofilament"

9:15 – 9:35 **Oyut Dagva**, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, FR

"NucS is involved in Mismatch Repair through DSB formation in Streptomyces"

9:35 – 9:55 **Camille Gelot**, Institut Curie, Paris, FR

"Pol Theta (Polθ) repairs DNA double strand breaks in mitosis to preserve genome integrity"

9:55-10:20 **Corinne Grey**, IGH, Montpellier, FR (invited speaker)

"Interplay between meiotic chromosome organization on meiotic recombination in mouse"

10:20-10:50 Coffee break

Day 2: Wednesday May 11, 2022 (continued)

10:50-12:20 Session 3: Chromatin and Genome Stability

(chair: Françoise Ochsenbein & Valérie Borde)

10:50 – 11:15 **EMBO Young Investigator Lecture**

Sophie Polo, Epigenetics and Cell Fate Centre, Paris, FR (invited speaker)

"Mitotic chromatin marking governs asymmetric segregation of DNA damage"

11:15 – 11:35 **Zuleyha Yildirim**, UMR7242 ESBS, Illkirch, FR

"PARP3 promotes myogenic differentiation and skeletal muscle function in cooperation with the histone methyltransferase EZH2"

11:35 – 11:55 **Ophélie Martin**, University of Sussex, Brighton, UK

"Pol theta-dependent compromised DNA repair fidelity in embryonic stem cells"

11:55 – 12:20 **Francois-Xavier Barre**, I2BC, Gif-sur-Yvette, FR (invited speaker)

"Exploring the mechanisms responsible for the formation of highly cohesive territories on the two V. cholerae chromosomes"

12:20 – 14:00 Lunch

14:00- 16:00 Poster Session I (continued): poster numbers 1-63

16:00 – 18:50 Session 4: Replication and Replication Stress

(chair: Josée Guirouilh-Barbat & Anna Campalans)

16:00 – 16:30 **Keynote lecture.**

Michelle Debatisse, Institut Gustave Roussy, Villejuif, FR

"Common Fragile Site instability: a race against time"

16:30 – 16:50 **Bertrand Theulot**, Institut de Biologie de l'École Normale Supérieure, Paris, FR

"Genome-wide mapping of individual replication fork velocities using nanopore sequencing"

16:50 – 17:10 **Gabriel Eduardo de Matos Rodrigues**, NIH, Bethesda, US

"Linking Dynamic DNA Secondary Structures to Genome Instability"

17:10 – 17:40 Coffee Break

17:40 – 18:05 **Chunlong Chen**, Institut Curie, Paris, FR (invited speaker)

"Decipher DNA replication program of human cells at the single-molecule and single-cell levels"

18:05 – 18:25 **Katarzyna Maslowska**, CRCM, Marseille, FR

"Timing of lesion tolerance pathways in Saccharomyces cerevisiae"

18:25 - 18:50 **Philippe Pasero**, IGH, CNRS et Université de Montpellier, FR (invited speaker)

"Signaling replication stress beyond cell boundaries"

19:00-20:00 Dinner

20:00-22:00 Poster Session II: poster numbers 64-125

Day 3: Thursday May 12, 2022

8:30-10:05 Session 5: Structural Biology and Single Molecule in 3R

(chair: Françoise Ochsenbein & Olivier Espeli)

8:30 – 8:55 **Jean-Baptiste Charbonnier**, I2BC, Gif-sur-Yvette, FR (invited speaker)

"Ku70/80 acts as the main hub of the c-NHEJ pathway"

8:55 – 9:15 **Claire Cargemel**, I2BC, Gif-sur-Yvette, FR

"DciA, the ancestral replicative helicase loader"

9:15 – 9:35 **Eli Rothenberg**, NYU School of Medicine, New York, US

"Visualization of replication fork remodeling and repair via single-molecule imaging"

9:35– 10:00 **Terence Strick**, Institut de Biologie de l'École Normale supérieure, Paris, FR

(invited speaker)

"Transcription-coupled repair balances genome stability and evolution"

10:00 – 10:05 **Presentation of the SFC** (Société Française du Cancer)

10:05 – 10:30 Coffee Break

10:30 – 12:00 Session 6: Nuclear Organization & Chromosome Dynamics

(chair: Bertrand Llorente & Olivier Espeli)

10:30 – 10:55 **Emmanuelle Fabre**, Genome Biology (GeBi) Team, Genomes and Cell Biology of Diseases Lab, INSERM U944, CNRS UMR7212, St Louis Research Institute, Paris, FR (invited speaker)

"4D Genome: organization, dynamics and integrity"

10:55 – 11:15 **Kamila Schirmeisen**, Institut Curie, Orsay, FR

"SUMO-dependent nuclear positioning safeguards replication fork integrity and competence"

11:15 – 11:35 **Julien Picotto**, CEA, Fontenay-aux-Roses, FR

"Lamin B1 increase leads to telomere instability"

11:35 – 12:00 **Romain Koszul**, Institut Pasteur, Paris, FR (invited speaker)

"Learning determinants of chromatin metabolisms from chimeric genomes"

12:00 – 14:00 Lunch

14:00-16:00 Poster Session II (continued): poster numbers 64-125

16:00 – 18:40 Session 7: Genome Maintenance and Diseases

(chair: Françoise Dantzer and Gaëlle Legube)

16:00 – 16:25 **Ludovic Deriano**, Institut Pasteur, Paris, FR (invited speaker)

"Mechanisms of DNA end-joining by 53BP1-Shieldin in recombining lymphocytes"

16:25 – 16:45 **Stéphane Coulon**, CRCM, Marseille, FR

"Missense mutations in RPA2 and RFW3 genes cause telomere biology disorders in human"

Day 3: Thursday May 12, 2022 (continued)

- 16:45 – 17:05 **Hubert Fleury**, University of Colorado, Boulder, US
"APE2 nuclease is essential for alternative end-joining and survival of HR-deficient cells"
- 17:05 – 17:25 **Guillaume Labrousse**, CRCT, INSERM U1037, Toulouse, FR
"The hereditary N363K PolE exonuclease mutant extends PPAP tumor spectrum to glioblastomas by causing DNA damage and aneuploidy in addition to increased mismatch mutagenicity"
- 17:25 – 17:55 Coffee Break**
- 17:55 – 18:20 **Olivier Sordet**, INSERM, Toulouse, FR (invited speaker)
"Transcriptional DNA double-strand breaks and neurodegenerative diseases"
- 18:20 – 18:40 **Simon Gemble**, Institut Curie, Paris, FR
"To scale or not to scale: Genetic instability from a single S-phase after whole genome duplication"
- 18:40 - 19:15 **Keynote Closing lecture:**
Susan Gasser, FMI, CH
"Actin' strange: chromatin remodeler responses to the DDR"
- 19:15 – 20:00 Drinks - Poster prizes**
- 20:00 – 21:00 Dinner**
- 21:00 - Dancing**

Day 4: Friday May 13, 2022

- 10:00 & 12:00** Departure of shuttles for the Toulon Train station.