



**DU 14 AU 16
NOVEMBRE 2013**
ESTRIMONT
SUITES & SPA



RÉMI QUIRION
PRÉSIDENT D'HONNEUR
SCIENTIFIQUE EN CHEF DU QUÉBEC

PROTÉINES+
BIO+
MOLÉCULES

ENVIRON+
NEMENT

CANCER

**CONGRÈS
ARMAND •
FRAPPIER**
2013

PATHO+
GENESE+
RÉPONSE
IMMU+
NITAIRE

INNO
VATIONS+
BIO
TECHNO
LOGIES

IAF.INRS.CA/CONGRESIAF

 **CONGRÈS
ARMAND • FRAPPIER**
UNE RÉUNION DES ÉTUDIANTS-CHERCHEURS
DE L'INSTITUT D'ARMAND-FRAPPIER

Nous vous souhaitons la bienvenue au 8^e Congrès Armand-Frappier

Le Congrès Armand-Frappier

Depuis 1999, le Congrès Armand-Frappier est entièrement organisé par des étudiants bénévoles de l'Institut National de la Recherche Scientifique - Institut Armand Frappier (INRS-IAF) et il constitue une occasion privilégiée pour les étudiants-chercheurs de présenter leurs résultats de recherche dans les différents domaines des biosciences. Il regroupe de manière bisannuelle plus de 150 participants en provenance de plusieurs universités. Le Congrès Armand-Frappier a comme mission globale de **valoriser la recherche en biosciences en français** et de favoriser la **création de collaborations multidisciplinaires** entre les différents acteurs du milieu de la recherche scientifique (étudiants, professeurs, professionnels de recherche, représentants de l'industrie). Ainsi le Congrès Armand-Frappier contribue à la formation scientifique de haut niveau des étudiants-chercheurs en biosciences.

Soulignons ici que le Congrès Armand-Frappier, bien qu'il collabore avec l'INRS-IAF et la Fondation universitaire Armand-Frappier de l'INRS pour son organisation, est entièrement indépendant de ces entités.

Comité organisateur 2013

- | | |
|--|--|
|  Andrée-Anne Hudon Thibeault
Présidente |  Hélène Carlettini
Vice-Présidente aux affaires externes |
|  Marc Fraser
Vice-Président aux affaires internes |  Karine Trudeau
Trésorière |
|  Carolina Plazas Gomez
Secrétaire |  Christina Robitaille
Coordonatrice à la gestion écoresponsable |
|  Hind Azouz
Coordonatrice aux relations interuniversitaires |  Gabriel Ouellet Lavallée
Coordonateur aux commandites |

**N'oubliez pas de visiter les
kiosques de nos généreux commanditaires**

et de répondre à notre sondage de satisfaction :

<https://fr.surveymonkey.com/s/ZF3WMGQ>

Table des matières

Mot du comité organisateur	1
Partenaires financiers	2
Mot du président d'honneur	15
Mot du directeur général et du directeur scientifique de l'INRS	16
Mot du directeur de l'INRS – Institut Armand-Frappier	17
Mot du directeur du service des études supérieures et postdoctorales de l'INRS ..	18
Informations générales sur les présentations	19
Horaire en bref.....	20
Horaire détaillé.....	21
Jeudi le 14 novembre 2013	21
Vendredi le 15 novembre 2013	22
Samedi le 16 novembre 2013.....	25
Atelier	26
Pr Normand Labrie.....	26
Conférenciers	27
Pr Michel Bouvier	27
Pr Fernando A. Seisdedos	28
Pr Sylvain Martel.....	29
Résumé des présentations orales.....	30
Résumé des présentations d'affiches à l'orale	43
Résumé des présentations d'affiches.....	50
Index des auteurs	90

Mot du comité organisateur

Chères participantes, chers participants,

Nous sommes fiers de vous accueillir à cette 8^{ième} édition du Congrès Armand-Frappier. Ce congrès francophone sur les biosciences est désormais bien établi et reconnu dans le milieu scientifique. C'est un lieu privilégié de rencontres dont la mission est :

- de favoriser la transmission des connaissances dans les différents domaines des biosciences;
- de valoriser les travaux des étudiants de 2^{ième} et 3^{ième} cycle;
- de promouvoir la recherche francophone en biosciences;
- de stimuler les échanges, les collaborations et les réseaux de contacts entre les différents centres universitaires.



En conformité avec cette mission, les thèmes de l'édition 2013 du Congrès Armand-Frappier (Cancer, Environnement, Innovation et biotechnologies, Pathogénèse et réponse immunitaire ainsi que Protéines et biomolécules) ont été retenus de manière à permettre des présentations multidisciplinaires et à favoriser les rencontres entre les différentes approches en recherche scientifique.

Au nom du comité organisateur, je vous remercie pour votre participation en grand nombre. Celle-ci témoigne, selon nous, de la pertinence et de l'intérêt pour de telles rencontres scientifiques multidisciplinaires. Nous espérons que notre programmation variée, qui comprend des conférences, des présentations orales, de courtes présentations orales d'affiches et des sessions d'affiches, saura satisfaire votre curiosité scientifique.

Tout en bénéficiant des bases solides léguées par les comités organisateurs des éditions précédentes, nous avons voulu donner à ce congrès une couleur particulière. Vous serez ainsi en mesure de visiter l'exposition de photos « *Le NGCC Amundsen : témoin des changements climatiques* » et de participer à l'approche écoresponsable du congrès, certifié niveau 2 selon les normes du Bureau de Normalisation du Québec. Plusieurs ont également assisté aux ateliers sur les biostatistiques que nous avons organisés. Par ailleurs, c'est avec beaucoup de fierté que le Congrès Armand-Frappier 2013 s'est joint aux célébrations du 75^{ième} anniversaire de l'œuvre d'Armand-Frappier en intégrant à ses activités le concours de vulgarisation scientifique.

Chaque réalisation associée à la mise en œuvre de notre congrès a nécessité un travail bénévole considérable de la part des membres du comité organisateur. En tant que présidente, je tiens à les remercier pour le dévouement et l'esprit de collaboration dont ils ont fait preuve au cours des 21 derniers mois.

Finalement, le succès de notre événement est fortement tributaire de l'appui de nos commanditaires et organismes subventionnaires. Le support de nos partenaires tels que l'INRS et l'INRS-IAF doit également être souligné. Nous les remercions vivement pour leur soutien et leurs encouragements.

Au nom du comité organisateur du Congrès Armand-Frappier 2013, je souhaite à tous un très bon congrès qui sera l'occasion, j'en suis certaine, de nombreuses rencontres enrichissantes.

Andrée-Anne Hudon Thibeault, Présidente du Congrès Armand-Frappier 2013



Classifié par le RQFE et son
Conseil québécois des
événements écoresponsables

INRS

Université d'avant-garde



IRSC **CIHR**

Instituts de recherche
en santé du Canada

Canadian Institutes of
Health Research

Ministère de la santé et
des services sociaux

Québec





MERCK

Vivre mieux

**Finances
et Économie**

Québec





ANIMA

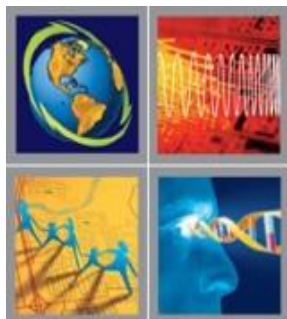
NEW WORLD
LABORATORIES



Fondation **ASÉQ**

**Relations
internationales,
Francophonie
et Commerce extérieur**

Québec



**FÉDÉRATION
DES ÉTUDIANTS
DE L'INRS**



*New England Biolabs Exclusive Canadian Distributor
for Cell Signaling Technology, Inc.*







SIGMA-ALDRICH



GE Healthcare



BD

BD Biosciences

***Développement
économique, Innovation
et Exportation***

Québec







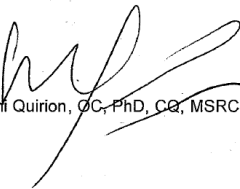
Je suis très heureux d'assumer la présidence d'honneur de la 8^e édition du Congrès Armand-Frappier. Cet événement est une occasion unique pour les étudiants-chercheurs et les stagiaires postdoctoraux de toutes les universités de venir présenter leurs résultats et de partager leur passion pour la science.

Organisé entièrement par des étudiants et stagiaires postdoctoraux de l'INRS-Armand-Frappier, ce congrès encourage le rayonnement de la science et sa diffusion en français. De plus, il représente pour les étudiants et stagiaires l'occasion de faire non seulement des présentations par affiche mais aussi des présentations orales, ce qui constitue pour eux une expérience enrichissante en prévision de leurs futures participations à des congrès nationaux et internationaux.

Cet événement s'inscrit dans la mission des Fonds de recherche du Québec qui vise à soutenir la formation de la relève en recherche. De plus, l'initiative de regrouper les présentations de scientifiques provenant de différents domaines pour favoriser les interactions entre eux correspond également à notre vision du développement de la recherche : encourager l'interdisciplinarité et l'intersectorialité pour ouvrir de nouveaux horizons de la connaissance et de l'innovation.

À titre de scientifique en chef du Québec, je tiens à souligner la pertinence et l'excellence de ce congrès et je félicite chaleureusement ses organisateurs ainsi que tous les participants. Je vous souhaite à tous beaucoup de succès!

Le scientifique en chef,



Rémi Quirion, OC, PhD, CQ, MSRC

Fonds de recherche – Nature et technologies
Fonds de recherche – Santé
Fonds de recherche – Société et culture

500, rue Sherbrooke Ouest, bureau 800
Montréal (Québec) H3A 3C6
Téléphone : 514 873-2114
Télécopieur : 514 873-8768
www.frq.gouv.qc.ca



Nous sommes très heureux de souligner la 8^e édition du Congrès Armand-Frappier. Cette initiative étudiante mérite d'être saluée et encouragée à plus d'un titre. Moment fort de la vie étudiante à l'INRS, cette rencontre scientifique bisannuelle témoigne du dynamisme et de la détermination d'étudiants du Centre INRS–Institut Armand-Frappier désireux d'animer la vie scientifique et de vivre une expérience stimulante.

Cette année encore, le programme proposé est d'une grande qualité et suscite l'intérêt avec la présence de conférenciers réputés. Autre point fort : il privilégie les échanges et les débats entre étudiants de 2^e et 3^e cycles et chercheurs œuvrant dans différents domaines des biosciences. De plus, il constitue une tribune de choix pour développer des habiletés de communication orale.

Il nous faut également souligner une nouvelle initiative lancée par les organisateurs de l'édition 2013 du congrès et digne de mention, soit le concours de vulgarisation scientifique qui soulignera les qualités de communication scientifique d'étudiants, une dimension importante dans une carrière en recherche.

Le Congrès Armand-Frappier offre également une occasion idéale pour tisser des liens avec des étudiants provenant d'autres universités et des complicités avec des chercheurs à leurs premières armes et chevronnés. De nouvelles idées et pistes de recherche émergent souvent de rencontres fortuites ou informelles, qui sont parfois à l'origine de nouvelles alliances de recherche.

Nous félicitons très chaleureusement les organisateurs qui, par leur implication et leur créativité, ont réalisé ce projet d'animation scientifique universitaire, devenu incontournable dans le domaine des biosciences. Nous remercions vivement tous les partenaires pour leur appui indispensable. À tous les étudiants qui ont accepté de communiquer leur science et de partager leurs résultats de recherche, nous adressons nos plus sincères remerciements.

Avec nos meilleurs vœux de succès !

Daniel Coderre, Ph. D.
Directeur général

Yves Bégin, Ph. D.
Directeur scientifique

Chers étudiants, stagiaires postdoctoraux, collègues professeurs, invités et autres participants,

C'est avec plaisir que je vous souhaite la bienvenue à cette 8^e édition du Congrès Armand-Frappier. Cette édition est toute spéciale car elle s'inscrit dans les différents événements qui ont souligné cette année le 75^e anniversaire de l'oeuvre du Dr Armand Frappier. Plusieurs étudiants et professeurs de notre centre ont démontré un esprit d'équipe et ont consacré leur temps et énergie pour faire de ce congrès un franc succès. Je les félicite et les remercie pour leurs contributions.



Depuis 1999, ce congrès est un lieu de rencontre qui favorise l'échange des idées entre étudiants et chercheurs de notre centre et provenant d'autres milieux universitaires. Cette année, les thématiques de recherche soulignées permettront à chacun d'élargir ses connaissances et d'apprécier les aspects des sciences biologiques reliés non seulement à vos propres intérêts mais également à des champs diversifiés. Les présentations orales seront notamment concentrées sur les innovations dans le secteur de la biotechnologie, du cancer, de l'environnement, de la pathogenèse et des réponses immunitaires, et de l'ingénierie des protéines et des biomolécules.

Je profite de cette occasion pour remercier les conférenciers de grande qualité qui ont accepté l'invitation de participer au congrès et d'échanger leurs connaissances avec nous. Je remercie également tous les organisateurs, juges et évaluateurs pour leur apport dans les comités de sélection ainsi que tous les participants (étudiants et professeurs) pour leur présence qui est à l'essence même du succès de ce congrès scientifique.

Je vous souhaite donc un excellent congrès qui vous permettra de mieux connaître ce que font vos collègues ainsi que de faire de nouvelles connaissances dans un endroit décontracté, agréable et proche de la nature. Bon congrès !



Charles Dozois
Centre INRS-Institut Armand-Frappier





C'est avec beaucoup de conviction et de fierté que le Service des études supérieures et postdoctorales soutient l'organisation de ce congrès. Le comité organisateur a également réussi avec brio à obtenir l'appui nécessaire auprès de nombreux partenaires et organismes, dont les Instituts de recherche en santé du Canada. Ce congrès constitue un modèle de succès inspirant. Le Service des études supérieures et postdoctorales entend d'ailleurs appuyer des projets de même nature mis en œuvre par des étudiants du Centre INRS–Institut Armand-Frappier ou des autres centres universitaires de recherche de l'INRS

L'INRS a célébré cette année le 75^e anniversaire de l'œuvre d'Armand Frappier. Celui-ci serait probablement très fier de constater à quel point la flamme qui l'animait est toujours bien vivante. Les étudiants du Centre INRS–Institut Armand-Frappier démontrent chaque jour par leur intelligence, leur fougue et leur rigueur que l'œuvre du D^r Armand Frappier est promise à un bel avenir.

Je remercie particulièrement les membres du comité organisateur de cette 8^e édition du Congrès Armand-Frappier qui ont réalisé un travail formidable. Je les félicite et souhaite qu'ils continuent de faire de cet événement bisannuel une vitrine scientifique extraordinaire dont le succès rejaillit sur l'ensemble de l'INRS.

Cet événement nous rappelle la base du travail de chercheur : le partage. La connaissance se construit grâce au legs des générations qui nous ont précédés et à la mise en commun des découvertes de l'ensemble de la communauté scientifique. Le partage de ces découvertes permet de repousser constamment les limites de la connaissance. Je tiens à féliciter les étudiants du Centre INRS–Institut Armand-Frappier pour l'invitation lancée à la communauté scientifique d'échanger et de partager, ce qui est essentiel pour permettre le progrès.

Mes plus sincères félicitations aux membres du comité organisateur et longue vie au Congrès Armand-Frappier!

Philippe-Edwin Bélanger

Informations générales sur les présentations

Les bourses pour les meilleures présentations orales et par affiches seront décernées lors de la clôture de l'événement, samedi le 16 novembre.

Notez que seuls les étudiants de maîtrise et de doctorat sont inclus dans le concours.

Présentation orale

Les présentations orales seront de 10 minutes avec 5 minutes de questions.

L'utilisation du français lors des présentations a été encouragée, par contre, elles peuvent se faire en français ou en anglais (à la condition d'un support visuel écrit en français).

Présentation d'affiche à l'orale

Les présentations d'affiche à l'oral ont un temps limité de 3 minutes sans questions.

L'utilisation du français lors des présentations a été encouragée, par contre, elles peuvent se faire en français ou en anglais.

Le seul support visuel permis est l'affiche version électronique avec 1 ou 2 diapositives qui mettent l'accent sur des sections de l'affiche.

Présentation d'affiche

Les affiches doivent être installées avant 17h00 jeudi le 14 novembre et doivent être retirées avant 21h vendredi 15 novembre.

Les affiches aux numéros impairs seront présentées jeudi de 17h00 à 19h00.

Les affiches aux numéros pairs seront présentées vendredi de 18h00 à 20h00.

Chaque affiche sera évaluée par 3 évaluateurs. Les 3 affiches ayant obtenues les meilleures notes du jour seront réévaluées par un comité de sélection des gagnants en 2^e tours.

Il est donc important que vous restiez devant votre affiche pour toute la durée de la session.

Les présentations devant évaluateurs devront être de 3 minutes avec 1-2 minutes de questions.

L'utilisation du français lors des présentations a été encouragée, par contre, elles peuvent se faire en français avec un support visuel en français et/ou en anglais **ou** en anglais avec un support visuel en français.

Merci aux nombreux évaluateurs pour votre implication !

Comité de sélection des présentations orales

Pre Géraldine Delbes
Pre Krista Heinonen
Pre Maritza Jaramillo
Pascal Lapierre, PhD
Pr François Lépine

Évaluateurs des présentations orales

Pr Philippe Constant
Pr Alain Fournier
Pre Simona Stager
Pr Peter Tjissen
Pre Cathy Vaillancourt

Évaluateurs des affiches

Audrey Blanc-Lapierre, PhD
Tania Charpentier, MSc
Pr David Chatenet
Rafael de Liz, PhD
Amélie Garénaux, PhD
Sébastien Houle, MSc
Elise Kolasa, PhD
Emilie Lacaze, PhD
Pr Alain Lamarre

Laetitia Laurent, PhD
Myriam Létourneau, MSc
Christine Matte, MSc
Pr Jonathan Perreault
Pr Isabelle Plante
Gaëlle Porcheron, PhD
Pr Charles Ramassamy
Nicolas Richerieux, PhD
Pr Yves St-Pierre

Horaire en bref

	Jeudi 14 novembre	Vendredi 15 novembre	Samedi 16 novembre
Matin		Yoga (activité facultative) 6h30-7h30	
Déjeuner		7h00-8h30	7h00-8h30
Avant-midi		ATELIER Pr Normand Labrie Directeur scientifique du FRQSC Pause-Café 9h30-10h00 SESSION 2 Présentations orales Cancer 10h00-11h30 Affiches à l'oral 11h30-11h45	Conférence : Pr Sylvain Martel 8h30-9h30 Pause-Café 9h30-10h00 SESSION 5 Présentations orales Protéines et biomolécules 10h00-11h30 Affiches à l'oral 11h30-11h45
Dîner		11h45-13h00	11h45-13h00
Après-midi	Arrivée/Inscription 12h00-13h00 Mots d'ouverture 13h00-13h30 SESSION 1 Présentations orales Innovations et biotechnologies 13h30-15h00 Affiches à l'oral 15h00-15h15 Pause-Café 15h15-15h45 Conférence : Pr Michel Bouvier parrainée par New World Laboratories 15h45-16h45 SESSION D'AFFICHES 1 17h00-19h00	SESSION 3 Présentations orales Environnement 13h00-14h30 Pause 14h30-14h45 SESSION 4 Présentations orales Pathogenèse et Réponse immunitaire 14h45-16h15 Affiches à l'oral 16h15-16h30 Pause-Café « Société canadienne des microbiologistes » 16h30-17h00 Conférence: Pr Fernando A. Seisdedos 17h00-18h00 SESSION D'AFFICHES 2 18h00-20h00	Cérémonie de clôture 13h00-14h00
Souper	19h00-21h00	20h00-22h00 Présentation des gagnants du concours de vulgarisation	
Soirée	Feu de joie	Soirée dansante N'oubliez pas vos consommations	

Horaire détaillé

Jedi le 14 novembre 2013

12:00 – 13:00	Arrivée / Inscription	Hall d'entrée
	Cocktail d'accueil « Dieu du ciel en l'honneur du 75e de l'Institut Armand-Frappier »	Salle Orford

13:00 – 13:30	Allocution de bienvenue	Salle Orford
---------------	-------------------------	--------------

13:30 – 15:00	Présentations orales session 1 Innovations et biotechnologies	Salle Orford
---------------	--	--------------

- O1.1 Génération d'impulsions X femtosecondes dans la fenêtre de l'eau (284eV-543eV) pour de futures applications en imagerie biologique de haut contraste résolue en temps
Samuel Beaulieu
- O1.2 Une pseudoparticule virale de plante au service du système immunitaire
Marie-Ève Lebel
- O1.3 La motilité de type «swarming» chez *Burkholderia glumae*
Arvin Nickzad
- O1.4 Améliorer la thermostabilité de la xylanase d'*Aspergillus niger* par évolution dirigée
Letian Song
- O1.5 La production des rhamnolipides chez *Pseudomonas aeruginosa* est en corrélation avec le type d'activité nette intracellulaire enoyl-CoA hydratase
Ahmad Saleh
-

15:00 – 15:15	Présentations d'affiches à l'Oral 1	Salle Orford
---------------	-------------------------------------	--------------

- AO1 Effet antiviral et anti-inflammatoire de l'isoliquiritigenin en contexte d'infection par le virus de l'influenza *in vitro*
Hussein Troubsi
- AO2 Effet du plomb sur le transport et le récepteur 5-HT_{2A} de la sérotonine dans le placenta humain
Marc Fraser
- AO3 Implication du facteur de transcription HIF-1 α dans l'infection chronique par le LCMV
Tania Charpentier
- AO4 Identification d'un nouveau rôle régulateur de la protéine UL24 du virus de l'herpès simplex de type 1
Carolina Sanabria-Solano
-

15:15 – 15:45	Pause-café	Hall
---------------	------------	------

15:45 – 16:45	Conférence parrainée par « New World Laboratories »	Salle Orford
---------------	---	--------------

Pr Michel Bouvier

Institut de Recherche en Immunologie et en Cancérologie, Université de Montréal
« Repliement et maturation de récepteurs couplés aux protéines G : Cible thérapeutique pour le traitement de maladies génétiques conformationnelles »

Jeudi le 14 novembre 2013 (suite)

17:00 – 19:00 **Présentation par affiches session 1 / Cocktail « Dieu du Ciel »** Salle Nolain A
Chiffres impairs

19:00 – 21:00 **Souper buffet** Salle Orford

21:00 – 1:00 **Feu de joie** Dehors!

Vendredi le 15 novembre 2013

6:30 – 7:30 **Yoga (activité facultative)** Salle Nolain A

7:00 – 8:30 **Déjeuner** Salle à manger

8:30 – 9:30 **Atelier** Salle Orford

Pr Normand Labrie
Directeur scientifique du FRQSC
« Le FRQ et la relève »

9:30 – 10:00 **Pause-café** Hall

10:00 – 11:30 **Présentations orales session 2** Salle Orford
Cancer

- O2.1 Effets des agents plastifiants sur la régulation des connexines et la promotion tumorale dans la glande mammaire
Elise Kolasa
- O2.2 Développement de bioessais pour la détection de perturbateurs xénobiotiques de l'expression promoteur-spécifique de l'aromatase
Élyse Caron-Beaudoin
- O2.3 Évaluation du rôle de Connexine 43 dans l'organogenèse des glandes mammaires par un nouveau modèle de co-culture 3D
Mélanie Busby
- O2.4 Rôle anti-tumoral de la galectine-7 dans le cancer de la prostate
Marilyne Labrie
- O2.5 Utilisation d'anticoagulants oraux et risque de cancer de la prostate : une étude cas-témoins à base populationnelle
Audrey Blanc-Lapierre

Vendredi le 15 novembre 2013 (suite)

11:30 – 11:45 **Présentations d'affiches à l'oral 2** **Salle Orford**

- AO5 *Hyphomicrobium nitrivorans* NL23 : une nouvelle espèce bactérienne isolée d'un biofilm dénitrifiant traitant l'eau salée au Biodôme de Montréal
Christine Martineau
- AO6 Étude des propriétés pro-inflammatoires des nanoparticules d'argent chez les neutrophiles humains
Rafael de Liz
- AO7 Nanoparticules comme vecteur thérapeutiques : Une nouvelle stratégie pour le traitement de la maladie d'Alzheimer
Sihem Doggui

11:45 – 13:00 **Dîner** **Salle à manger**

13:00 – 14:30 **Présentations orales session 3
Environnement** **Salle Orford**

- O3.1 Le curcumin restaure le système redox et protège les neurones contre la toxicité induite par l'acroléine
Abdenour Belkacemi
- O3.2 Étude sur la dynamique de dénitrification et la diversité bactérienne d'un biofilm dénitrifiant retrouvé au Biodôme de Montréal
Geneviève Payette
- O3.3 L'exposition aux phtalates, PBDE, et SGB comme cause potentielle de l'autisme
Stéphanie Degroote
- O3.4 L'expression du régulateur global post-transcriptionnel RsmA s'auto-régule négativement chez le pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa*
Fabrice Jean-Pierre
- O3.5 Caractérisation des déterminants moléculaires de la protéine 6K2 du TuMV dans la biogenèse des complexes viraux cellulaires de réplication du TuMV
Jun Jiang

14:30 – 14:45 **Pause** **Hall**

Vendredi le 15 novembre 2013 (suite)

14:45 – 16:15 **Présentations orales session 4** **Salle Orford**
Pathogenèse et Réponse immunitaire

- O4.1 Frizzled 6 promeut l'engagement vers le lignage granulo-macrophagique et inhibe la différenciation lymphocytaire
Belma Melda Abidin
- O4.2 Le motif de localisation nucléaire des protéines de la capsid du parvovirus porcin : un mécanisme de contrôle de la qualité de l'assemblage en trimères
Maude Boisvert
- O4.3 Effet neuroprotecteur et antiviral de la mémantine contre un coronavirus respiratoire humain neuroinvasif et neurovirulent
Élodie Brison
- O4.4 Mécanismes impliqués dans l'apparition tardive des anticorps contre un antigène exogène durant une infection par le virus de la chorioméningite lymphocytaire
Matthieu Daugan
- O4.5 CD28 contrôle la maturation fonctionnelle des cellules NKT
Mitra Yousefi

16:15 – 16:30 **Présentations d'affiches à l'oral 4** **Salle Orford**

- AO8 Détermination des effets d'une exposition à un mélange de retardateurs de flammes bromés (BFRs) sur le développement des glandes mammaires et des jonctions lacunaires chez le rat
Elham Dianati
- AO9 Effets de pesticides sur la voie de signalisation dépendante des androgènes dans les cellules cancéreuses de la prostate et un modèle stéroïdogénique de cellules cortico-surrénales cancéreuses humaines
Christina N. Robitaille
- AO10 Inhibition de la réplication du virus de l'herpès simplex 1 par le facteur cellulaire UBF
Gabriel Ouellet Lavallée

16:30 – 17:00 **Pause-café « Société canadienne des microbiologistes »** **Hall**

17:00 – 18:00 **Conférence** **Salle Orford**

Pr Fernando A. Seisdedos
Unité de pathogénie virale, Institut Pasteur
« La biologie cellulaire du VIH: liaison aux récepteurs et internalisation »

18:00 – 20:00 **Présentation par affiches session 2 / Cocktail « Dieu du Ciel »** **Salle Nolain A**
Chiffres pairs

20:00 – 22:00 **Grand Banquet** **Salle Orford**
Présentation des gagnants du concours de vulgarisation

22:00 – 2:00 **Soirée dansante et karaoké** **Salle Orford**
Apportez vos consommations!

Samedi le 16 novembre 2013

7:00 – 8:30	Déjeuner	Salle à manger
8:30 – 9:30	Conférence	Salle Orford
Pr Sylvain Martel Département de génie informatique et génie logiciel, Institut de génie biomédical École Polytechnique de Montréal « Bactéries contrôlées par ordinateur et appareils d'imagerie par résonance magnétique pour la livraison d'agents thérapeutiques dans les tumeurs »		
9:30 – 10:00	Pause-café	Hall
10:00 – 11:30	Présentations orales session 5 Protéines et biomolécules	Salle Orford
O5.1	Régulation post-traductionnelle du facteur de fragmentation de l'ADN (DFF) lors de l'apoptose Bruno Johnson	
O5.2	Étude du mécanisme de biosynthèse des HAQ chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Carlos Eduardo Dulcey	
O5.3	Analyse mutationnelle systématique de l'hydrolase putative PqsE : vers une meilleure compréhension moléculaire de l'acquisition de la virulence chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Benjamin Folch	
O5.4	Prédire l'apparition de souches résistantes au clavulanate chez <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Hélène Carlettini	
O5.5	Exploration du méthylome de SMYD2 par la biologie des systèmes Sylvain Lanouette	
11:30 – 11:45	Présentations d'affiches à l'oral 5	Salle Orford
AO11	Nouvelle voie de régulation du gène pro-métastatique MMP-9 via BMP4 Nathalie Bibens Iaulan	
AO12	Le recrutement du complexe d'élongation d'autophagie (ATG5-12/16) au niveau du site de la réplication du virus de l'hépatite C est nécessaire pour une réplication efficace Ahmed M. Fahmy	
AO13	La dégradation de la Synaptotagmine XI par la Leishmanolysine mène à une sécrétion dérégulée de cytokines Guillermo Arango Duque	
11:45 – 13:00	Dîner	Salle à manger
13:00 – 14:00	Cérémonie de clôture et remise de prix	Salle Orford

Pr Normand Labrie

Directeur scientifique
Fonds de recherche du Québec – Société et culture



Résumé

Le 30 avril 2013 s'est tenue à Montréal une journée de réflexion sur la question de la formation à la recherche. Cette journée répondait à une invitation lancée par le scientifique en chef du Québec auprès de la communauté universitaire, des ministères et des organismes directement interpellés par le sujet, et faisait suite au grand Sommet sur l'enseignement supérieur tenu à l'hiver 2013 et aux Assises nationales de la recherche et de l'innovation des 15 et 16 avril 2013. En consacrant cette journée à la formation à la recherche, les Fonds de recherche du Québec réitéraient leur engagement comme organismes subventionnaires à promouvoir la réflexion et le débat autour de la question de la formation des futures générations de chercheurs au Québec.

Les objectifs de cette journée étaient d'examiner la formation à la recherche telle que pratiquée actuellement, et d'imaginer son renouveau par un examen des contenus et des modes de formation, de la capacité de systèmes d'éducation à préparer les futures générations, et ce, en symbiose avec les besoins sociétaux, les aspirations des jeunes chercheurs et les futurs débouchés.

Cette journée a donné lieu à une série de constats qui guideront les initiatives futures visant la formation à la recherche, tels que :

- Près du tiers des titulaires de doctorat poursuivent une carrière académique, les autres travaillent en R-D industrielle et publique ou occupent d'autres professions.
- La durée moyenne des études au niveau de la maîtrise est particulièrement longue et le taux d'abandon au niveau doctoral est très élevé.
- Le modèle de formation à la recherche tend à évoluer vers une formation personnalisée nécessitant l'acquisition de compétences non seulement scientifiques, mais aussi transversales.
- Une formation multidisciplinaire est fortement encouragée, laissant place à différents modèles de formation en fonction des domaines et secteurs de recherche.
- Les mesures visant à améliorer la formation à la recherche doivent répondre à des principes de flexibilité (malléabilité et adaptation), de mobilité (internationale, interinstitutionnelle, milieu académique-milieus de pratique privés et publics) et d'individualité (personnalisation des parcours et de l'offre de formation).
- L'encadrement devrait être vu comme une responsabilité collective (implication des étudiants, des chercheurs, de l'université dans son ensemble). Aussi, l'augmentation du taux de diplomation au doctorat comme à la maîtrise passe par une meilleure intégration à une communauté de la recherche.
- Le marché du travail exige de plus en plus de versatilité et d'adaptabilité, ce qui s'acquiert notamment par un milieu de formation à la recherche collaboratif et multidisciplinaire.

Biographie

Après avoir complété un doctorat en linguistique à l'Université Laval et un postdoctorat au Centre de recherche sur le plurilinguisme de la Katholieke Universiteit Brussel, le professeur Labrie a entrepris une carrière universitaire à l'Ontario Institute for Studies in Education (la faculté d'éducation de l'Université de Toronto), où il a dirigé le Centre de recherches en éducation franco-ontarienne pendant dix ans et occupé le poste de vicedoyen à la recherche et aux études supérieures pendant huit ans. Il a été professeur invité au John-F. Kennedy Institut für Nordamerikastudien della Freie Universität Berlin, à l'Institut de phonétique et de linguistique générales et appliquées de l'Université Paris III - Sorbonne Nouvelle, et au Zentrum für Nordamerikastudien de la Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Sociolinguiste de formation, il a étudié le pluralisme linguistique sous divers angles. M. Labrie a été actif pendant plusieurs années à la Commission européenne à titre d'expert international sur les minorités linguistiques, à l'Agence universitaire de la Francophonie, en tant que Vice-président du Comité consultatif sur la situation du français et des francophones en Amérique du Nord, et de président du Réseau international des observatoires du français et des langues nationales. En 2007, il a reçu la Médaille de l'Ordre de la Pléiade de l'Assemblée parlementaire de la Francophonie (Luxembourg) pour sa contribution au développement de la francophonie en Ontario.

Pr Michel Bouvier

Institut de Recherche en Immunologie et en Cancérologie, Université de Montréal



Résumé

Repliement et maturation de récepteurs couplés aux protéines G : Cible thérapeutique pour le traitement de maladies génétiques conformationnelles

Plusieurs maladies génétiques résultent de mutations de gènes codant pour des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Dans plusieurs cas, ces mutations n'affectent pas directement des sites fonctionnels des récepteurs mais provoquent plutôt un repliement imparfait. Ces altérations conformationnelles entraînent une rétention intracellulaire des récepteurs par le système de contrôle de qualité du réticulum endoplasmique. Des exemples de telles maladies conformationnelles incluent le diabète insipide néphrogénique (DIN) et l'obésité précoce sévère familiale (OPSF) qui sont dues à des mutations des récepteurs V2R de la vasopressine et MC4R de la mélanocortine respectivement. Dans les deux cas, nous avons trouvé que des molécules qui pénètrent la membrane des cellules et se lient sélectivement aux récepteurs favorisent le repliement des récepteurs et leur acheminement à la surface cellulaire, restaurant leur fonction. Ces observations ont conduit au concept de chaperones pharmacologiques. Dans le cas du DIN, nous avons identifié une chaperone pharmacologique qui lorsqu'administrée à des patients, améliore significativement leurs fonctions rénales, procurant une preuve de principe de l'efficacité thérapeutique des chaperones pharmacologiques. Pour l'OPSF, nous avons généré un premier modèle de souris transgénique exprimant une version mutante du gène humain du MC4R pour nous permettre d'évaluer l'efficacité thérapeutique potentielle des chaperones pharmacologiques MC4R.

Biographie

Le Dr Michel Bouvier détient un B.Sc. en biochimie (1979) et un Ph.D. en sciences neurologiques (1985) de l'Université de Montréal et a complété un stage post-doctoral (1985-89) à l'Université Duke sous la direction du Dr. R.J. Lefkowitz. Dr Bouvier est un expert de renommée mondiale en pharmacologie moléculaire et en découverte de médicaments. Il est un expert dans le domaine des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) et a apporté une contribution fondamentale à notre compréhension de cette classe importante de cibles thérapeutiques. Il est actuellement, chercheur principal à l'institut de recherche en immunologie et cancérologie (IRIC), président et directeur général de l'unité de découverte de médicaments et de commercialisation (IRICoR) et professeur de biochimie à l'Université de Montréal. Il est aussi membre du Comité exécutif du Réseau Québécois de Recherche sur le Médicament (RQRM) et agit en tant que membre de nombreux conseils consultatifs scientifiques pour des agences gouvernementales et des entreprises biopharmaceutiques. Le Dr Bouvier est titulaire d'une Chaire de recherche du Canada en Signalisation cellulaire et en pharmacologie moléculaire, est l'auteur de plus de 200 articles scientifiques et a livré plus de 300 conférences invitées. Plus de 40 étudiants de cycles supérieurs et 30 stagiaires postdoctoraux ont obtenu une formation dans son laboratoire. Ses contributions dans le domaine de la pharmacologie moléculaire ont été reconnues par l'attribution de nombreux prix et distinctions, dont la Chaire Hans Selye de biologie cellulaire, le prix Joe Doupe de la Société Canadienne d'investigation clinique, le prix Merck-Frosst de la Société canadienne de biochimie et de biologie moléculaire et cellulaire, les prix Léo Parizeau et Adrien Pouillot de l'Association Francophone pour le Savoir, le prix Michel Sarazin du Club de recherche clinique du Québec, et le Prix du chercheur chevronné de la Société canadienne des biosciences moléculaires. Il est également membre de l'Académie canadienne des sciences de la santé.

Pr Fernando A. Seisdedos

Unité de pathogénie virale, Institut Pasteur



Résumé

La biologie cellulaire du VIH: liaison aux récepteurs et internalisation

La première étape du cycle de réplication du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est l'entrée dans la cellule hôte. Elle joue un rôle majeur dans la détermination de tropisme viral, la capacité du VIH à dégrader le système immunitaire humain et l'évolution vers la phase clinique de l'infection. Le VIH utilise une série de mécanismes complexes pour livrer son génome dans le cytoplasme de la cellule hôte tout en minimisant simultanément la réponse immunitaire de celui-ci. Le premier est celui de l'attachement du VIH à la cellule. Il peut être non-spécifique, porté par des interactions de la glycoprotéine virale d'enveloppe (Env) soit avec des héparan sulfates, soit avec des molécules de fixation (ie, DC-SIGN, SIGLEC-1) différentes des récepteurs canoniques. Cependant, c'est la fixation de l'Env à ces derniers qui est indispensable à l'infection productive. Ce processus spécifique commence par la fixation de l'Env sur CD4 (récepteur primaire) et entraîne un changement conformationnel de celle-ci permettant sa liaison à un des corécepteurs cellulaires (CXCR4 ou CCR5). À son tour, cette interaction est responsable du déclenchement in fine de la fusion des membranes virales et cellulaires qui précède la libération de la nucléocapside virale dans le cytoplasme cellulaire. La compréhension de l'ensemble de ces mécanismes est le résultat des études in vitro et structurales (protéines Env, CD4, corécepteurs) et a des implications profondes dans notre conception du tropisme du VIH, de sa transmission, de la pathogénèse du SIDA et de l'intervention thérapeutique sur ces cibles spécifiques. Le cours passera en revue les mécanismes moléculaires de l'entrée du VIH, fournira le contexte historique des découvertes clés, exposera les avancées récentes et discutera les orientations futures dans le domaine, à la fois dans la recherche des interactions VIH/cellule et thérapeutique.

Biographie

Dr Fernando Arenzana-Seisdedos est titulaire d'un MD avec une spécialisation en pédiatrie (1982) et a été chercheur dans l'unité d'immuno-hématologie et de rhumatologie pédiatrique à l'Hôpital Necker-Enfants Malades jusqu'en 1986, année à laquelle il a participé à la création de l'unité d'immunologie virale de l'Institut Pasteur en France. En 2001, il est devenu directeur de recherche de classe 1 à l'Institut national de la santé et de la recherche médicale. Entre 2003 et 2010, Dr Arenzana-Seisdedos a présidé le conseil Pasteur-Weizmann. En 2004, Dr Arenzana-Seisdedos a gagné le prix national pour 10 ans de recherche en SIDA. Entre 2005 et 2008, il a été président du comité scientifique de Virologie et Immunologie avec l'agence nationale pour la recherche en SIDA (ANRS). En 2008, il est devenu scientifique résident à l'Institut Pasteur. À partir de cette année et jusqu'en 2012, il est devenu membre du conseil scientifique du FRS/FNRS en Belgique. En 2011, il est devenu membre du conseil scientifique de l'Institut Pasteur au Cambodge et en 2012, il est devenu membre du conseil scientifique de l'Institut Pasteur au Dakar. Dr Arenzana-Seisdedos est arbitre scientifique pour plus de 15 journaux, en incluant PNAS, PLoS One, AIDS et Immunology & Cell Biology, ainsi que pour plus de 10 institutions de recherche nationales et internationales. Il est l'auteur de plus de 100 articles scientifiques, dont le plus récent dans PNAS intitulé : *HIV-1 exploits CCR5 conformational heterogeneity to escape inhibition by chemokines*.

Pr Sylvain Martel

Département de génie informatique et génie logiciel, Polytechnique Montréal

Résumé

Bactéries contrôlées par ordinateur et appareils d'imagerie par résonance magnétique pour la livraison d'agents thérapeutiques dans les tumeurs



Malgré que plusieurs types de cancer les plus meurtriers sont initialement localisés à un seul endroit dans le corps humain, les thérapies les plus utilisées sont souvent basées sur l'injection systémique d'agents toxiques qui s'attaquent à d'autres organes tout en engendrant une diminution significative de la quantité de drogue pouvant atteindre les régions à traiter. Cette situation nous a motivés à développer de nouvelles plateformes interventionnelles couplées à des agents thérapeutiques spécialement conçus pour naviguer le long de trajectoires prédéterminées dans le réseau vasculaire. La présentation démontrera brièvement comment certaines bactéries agissant comme transporteurs d'agents thérapeutiques peuvent être contrôlées pour livrer des drogues dans les régions hypoxiques de tumeurs solides. Les avantages que cette technologie pourrait apporter à la chimiothérapie et la radiothérapie seront aussi identifiés. Pour élargir les types de cancer qui pourraient bénéficier de cette nouvelle approche dite « ciblage directe » combinée aux techniques connues de ciblage passifs ou actifs, nous verrons comment l'utilisation de bactéries peut-être combinée à des transporteurs propulsés par des appareils cliniques d'imagerie à résonance magnétique et comment la nanotechnologie intégrée dans ces transporteurs peut contribuer à la livraison mieux ciblée de molécules thérapeutiques dans le cerveau. Des vidéos et des résultats préliminaires seront présentés afin d'aider l'auditoire à réaliser le potentiel de cette approche tout en stimulant l'intérêt de ceux qui pourraient un jour contribuer à élargir l'éventail des outils disponibles pour la lutte contre le cancer.

Biographie

Professeur Sylvain Martel a complété son doctorat en génie électrique/biomédical à l'université McGill en 1997. Après avoir complété plusieurs projets comme des plateformes pour la microchirurgie à distance, des systèmes pour la cartographie cardiaque et de nouveaux implants électroniques pour le cerveau, etc.; et après un séjour de 10 ans au Massachusetts Institute of Technology (MIT), les travaux de recherche du Professeur Martel au laboratoire de nanorobotique de Polytechnique Montréal se sont orientés vers la conception de nouvelles techniques et de plateformes nanorobotiques pour la lutte contre le cancer. Il est reconnu internationalement comme le pionnier dans ce domaine et son laboratoire hautement interdisciplinaire a été le premier à naviguer un corps sans fil dans le réseau vasculaire d'un être vivant. Ses travaux ont attirés l'attention des médias à travers le monde et ont inspirés plusieurs laboratoires de recherche en Europe, aux États-Unis et en Asie. En plus de plusieurs prix et distinctions, Professeur Martel est Membre (Fellow) de l'Académie Canadienne du Génie.

O1.1

Détermination des mécanismes moléculaires sous-jacents à l'utilisation des inhibiteurs de déacétylase d'histone dans le traitement de la leucémie pédiatrique

Samuel Beaulieu¹, Nicolas Thiré¹, Bruno Schmidt¹, Caterina Vozzi^{2*} et François Légaré¹

¹ *Institut National de la Recherche Scientifique, Centre EMT, 1650 bd Lionel Boulet, Varennes, QC J3X1S2, Canada*

² *CNR - Istituto di Fotonica e Nanotecnologia, piazza Leonardo de Vinci 32, 20133 Milano, Italy*

La génération d'impulsions X courtes et intenses dans la fenêtre de l'eau, région spectrale comprise entre la raie d'absorption-K du carbone (284eV) et celle de l'oxygène (543eV), est un objectif prisé dans le domaine du développement de sources cohérentes. À l'extérieur de cette région spectrale, l'eau et les composés organiques ont pratiquement le même coefficient d'absorption. Cette propriété rend très difficile l'imagerie en phase aqueuse, en raison du manque de contraste. Dans la fenêtre de l'eau, le carbone et l'azote (deux constituants importants des biomolécules) absorbent fortement les X, tandis que l'eau est quasi-transparente. L'imagerie de haut contraste en milieu aqueux peut donc être effectuée avec l'utilisation de photon d'énergie entre 284eV et 543eV. Au laboratoire de sources femtosecondes (LSF-ALLS), à l'INRS-EMT, nous avons développé une source laser qui produit des impulsions femtosecondes X à haut flux dans la fenêtre de l'eau, pavant la route vers de futures applications en imagerie biologique de haut contraste résolue en temps. En effet, à l'inverse de source de type synchrotron, l'utilisation d'impulsions X ultra-courtes à grande puissance instantanée permettrait d'imager l'évolution temporelle de certaine dynamique d'entités nano- et micrométriques (biomolécules, cellules,...) dans leur milieu naturel.

O1.2

Une pseudoparticule virale de plante au service du système immunitaire

Marie-Ève Lebel¹, Jean-François Daudelin², Nathalie Labrecque², Denis Leclerc³ et Alain Lamarre¹

¹ *INRS-Institut Armand Frappier*

² *Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont, Université de Montréal*

³ *Centre de Recherche en Infectiologie, Université Laval.*

La vaccination est à ce jour la méthode la plus efficace pour contrôler les maladies infectieuses. Cependant, la génération de vaccins sécuritaires ayant la capacité d'engendrer une immunité cellulaire protectrice, essentielle pour protéger contre la plupart des infections chroniques et les cancers, constitue un défi de taille. Nous avons démontré précédemment que les pseudoparticules du virus de la mosaïque de la papaye (PapMV) sont hautement immunogéniques chez la souris et que leur utilisation en tant qu'adjuvant permet d'améliorer significativement la réponse humorale suite à une vaccination. Cependant, le mécanisme d'action de PapMV, ainsi que sa capacité à améliorer les vaccins engendrant une réponse immunitaire cellulaire restaient inconnus. Suite à des études d'immunisation chez la souris, nous avons déterminé que l'activation des cellules immunitaires par PapMV se fait via son ARNsb, dépend du récepteur TLR7 et mène à la production de cytokines proinflammatoires comme l'IL-6 et d'une cytokine antivirale, l'IFN- α . De plus, l'administration de PapMV 6 h avant une vaccination avec des cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse (BMDC) chargées avec le peptide OVA augmente le nombre de lymphocytes T CD8+ spécifiques, ainsi que la proportion de lymphocytes T CD8+ produisant des cytokines effectrices, et ce de façon TLR7 dépendante. En fait, le prétraitement avec PapMV augmente l'expression sur les BMDC de molécules de costimulation et de présentation antigénique ainsi que de ligands de récepteur du TNF, ce qui pourrait expliquer comment PapMV augmente la réponse cellulaire. L'utilisation de PapMV améliore également la réponse T CD8+ mémoire, résultant en une meilleure protection contre une infection par *Listeria monocytogenes* exprimant OVA. Ces résultats démontrent que PapMV est un adjuvant approprié pour les vaccins à base de BMDC. En conclusion, PapMV pourrait aider au développement de stratégies de vaccination thérapeutiques améliorées contre le cancer et les infections virales persistantes.

O1.3

La motilité de type «swarming» chez *Burkholderia glumae*

Arvin Nickzad et Eric Déziel

INRS - Institut Armand-Frappier, Laval, Québec H7V 1B7, Canada

Chez la bactérie *Burkholderia glumae*, un phytopathogène important du riz, la motilité flagellaire, qui se manifeste par les motilités de type « swimming » et « swarming » est considérée comme un des facteurs de la virulence. La motilité du type « swarming » est un mouvement rapide et coordonné d'une population bactérienne sur une surface semi-solide qui implique la présence d'un flagelle fonctionnel et la production des molécules tensio-actives. Chez plusieurs espèces étudiées, la production de ces biosurfactants est régulée par des mécanismes de communication intercellulaire nommés « quorum sensing » (QS). Nous avons rapporté précédemment que *B. glumae* produit des quantités appréciables de rhamnolipides. Nous avons maintenant trouvé que chez *B. glumae* BGR1, le « swarming » est également lié à la production de rhamnolipides et plusieurs évidences suggèrent que le QS est impliqué dans leur biosynthèse. Chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Burkholderia thailandensis* ces molécules tensio-actives sont produites par des enzymes codées par trois gènes distincts, soit *rhlA*, *rhlB*, et *rhlC*. En utilisant une méthode de mutagenèse ciblée par échange allélique et inactivation du gène *rhlA* dans *B. glumae*, nous avons obtenu un mutant qui est incapable de produire des rhamnolipides et n'exerce plus la motilité de type « swarming ». Aussi, un mutant du QS: le mutant *tojT* est incapable d'effectuer le « swarming ». Des essais de « swimming » entre les mutants *rhlA* et *tojT* et la souche sauvage ont révélé une compétence équivalente en termes de présence de flagelle fonctionnel. Cela suggère donc que la perte de la motilité de type « swarming » chez le mutant *tojT* est attribué à la perte de la production des rhamnolipides et pas à la biosynthèse des flagelles. Ceci également démontre l'implication du QS dans la production des rhamnolipides chez *B. glumae*.

O1.4

Améliorer la thermostabilité de la xylanase d'*Aspergillus niger* par évolution dirigée

Letian Song, Michel Sylvestre

Institut National de la Recherche Scientifique, de l'INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC H7V 1B7, Canada

La xylanase *Aspergillus Niger* (An-Xyn) est une enzyme de la famille GH10 et possède une activité de bio-blanchiment utile pour l'industrie des pâtes et papiers. Cependant, sa faible stabilité thermique entrave son potentiel d'application industrielle. Dans cette étude, deux stratégies complémentaires d'ingénierie des protéines associées à une approche de criblage à haut débit ont été employées pour améliorer la stabilité thermique de l'enzyme. Dans une première étape, une analyse in silico de sa structure modélisée a permis d'identifier une région cible pour effectuer une ronde de mutagenèse aléatoire. Parmi une banque de 8092 clones, 21 ont montré une activité résiduelle qui était de 2 à 26 fois plus grande que le parent après une exposition à 58 °C de 15 minutes. Cette première ronde de mutagenèse nous a permis d'identifier cinq résidus susceptibles d'affecter la résistance thermique. Ces résidus ont été mutés par une ronde de mutagenèse saturante itérative (ISM) de quatre cycles pour générer sept banques de mutants. Les six meilleurs clones de chaque banque montraient une augmentation significative de la résistance thermique. Comparé à l'enzyme parent, la température d'activité optimale du mutant la plus résistant (un quintuple mutant) est passée de 45-50 °C à 60-65 °C, et la température de fusion de la protéine a augmenté de 15 °C. De plus, la demi-vie à 60 °C du mutant est 30 fois plus longue que celle du parent et on note une augmentation de 73% par rapport à celle du parent de l'activité spécifique mesurée à sa température optimale. L'analyse cinétique indique que les modifications structurelles de l'enzyme mutant n'ont eu aucune influence sur les propriétés catalytiques. Ces xylanases modifiées génétiquement nous permettent de mieux comprendre la relation structure-fonction des protéines, et fournissent catalyseur potentiel pour l'industrie papetière.

O1.5

La production des rhamnolipides chez *Pseudomonas aeruginosa* est en corrélation avec le type d'activité nette intracellulaire enoyl-CoA hydratase

Ahmad M. Abdel-Mawgoud et Eric Déziel

INRS-Institut Armand-Frappier

Les rhamnolipides (RL) sont des molécules multifonctionnelles aux propriétés surfactives sécrétés par le pathogène bactérien *Pseudomonas aeruginosa*. Ces biosurfactants sont synthétisés par les enzymes RhlA et RhlB à partir des deux précurseurs rhamnose et 3-hydroxyalkanoate (C₁₀₋₁₂). Les 3-hydroxyalkanoates formant les RL sont uniquement sous la forme *R* et originent de la β -oxydation par l'action des enoyl-CoA hydratases du type-2 (ECH-2) RhlY/Z, qui génèrent le 3-hydroxyalkanoate spécifiquement sous la forme *R*. Dans cette étude, la corrélation entre le type d'activité intracellulaire nette d'ECH, soit de type-1 générant le *S*-3-hydroxyalkanoate ou de type-2 générant le *R*-3-hydroxyalkanoate, et le taux de production des RL a été investigué dans différents milieux de culture et chez différentes souches bactériennes. Le type d'activité ECH a été déterminé en utilisant une méthode d'essai stéréospécifique d'ECH par chromatographie chirale couplée à la spectrométrie de masse en tandem qui permet la discrimination quantitative des *S*- et *R*-3-hydroxyalkanoates produits par l'activité ECH. Nous démontrons que l'activité intracellulaire nette d'ECH est presque également de type-1 et -2 chez les cellules de *P. aeruginosa* cultivées dans le milieu riche. Par contre, cette activité est exclusivement de type-2 dans le milieu à base de sels minéraux optimisé pour la production optimale des RL (100 fois plus que dans le milieu riche). Cette observation suggère une corrélation entre l'activité ECH-2 et la production des RL, ce qui est aussi vérifié dans d'autres souches de *Pseudomonas*, ex. *P. putida* et *P. fluorescens* ainsi que chez *Escherichia coli*. Cette étude démontre que pour la réussite de l'expression hétérologue des gènes de synthèse des RL, la présence d'une activité ECH-2 chez la souche-hôte est nécessaire.

O2.1

Effets des agents plastifiants sur la régulation des connexines et la promotion tumorale dans la glande mammaire.

Elise Kolasa et Isabelle Plante

INRS - Institut Armand-Frappier

Le bisphénol-A (BPA) et les phtalates sont des molécules de synthèse largement utilisées dans la fabrication de matières plastiques, qui possèdent des propriétés œstrogéniques et anti androgéniques, respectivement. Ces agents plastifiants sont omniprésents dans l'environnement et récemment, des études ont montré qu'ils augmenteraient le risque de cancer du sein. Cependant, les mécanismes d'action demeurent inconnus. Une dérégulation des connexines (Cx), protéines des jonctions lacunaires, a été associée au développement tumoral. Notre projet de recherche vise donc à déterminer si le BPA et les phtalates ont des effets pro-tumoraux dans la glande mammaire liés à une dérégulation des connexines. Des cellules mammaires humaines normales MCF12A ont été exposées au BPA, au dibutyl-phthalate (DBP), et au diethyl-phthalate (DEP) pendant 3 à 7 jours, à des doses représentatives de l'exposition humaine. Afin d'apprécier l'acquisition de propriétés tumorales, la prolifération cellulaire a été suivie en temps réel grâce au système XCELLigence (ACEA Biosciences Inc.). L'expression génique et protéique de la Cx43 a été quantifiée par RT-qPCR et par western blot, respectivement. Les données préliminaires montrent que le BPA et le DEP – mais pas le DBP – augmentent la prolifération cellulaire des MCF12A à partir de 10 pM. Aucun effet significatif n'a été décelé au niveau de l'expression de la Cx43. Ensemble, ces résultats suggèrent que le BPA et le DEP augmentent la prolifération des cellules de glande mammaire, sans affecter la Cx43. Des expériences supplémentaires sont requises pour investiguer plus largement les effets sur les jonctions lacunaires et sur les autres propriétés tumorigéniques des cellules. Une meilleure compréhension de ces phénomènes permettra de mieux juger des risques que représentent les agents plastifiants pour l'Homme. À long terme, la détermination des mécanismes de régulation des connexines permettra d'identifier les voies de signalisation pouvant être non seulement la cible des agents plastifiants, mais aussi être impliquées plus généralement dans le cancer du sein.

Financé par le CRSNG, la SRC et la FQCS.

O2.2

Développement de bioessais pour la détection de perturbateurs xénobiotiques de l'expression promoteur-spécifique de l'aromatase

Caron-Beaudoin, Élyse et Sanderson, Thomas

INRS – Institut Armand-Frappier, Université du Québec

Dans le cas de cancer du sein hormono-dépendant, l'expression de l'aromatase (CYP19) dans les fibroblastes (stroma adipeux) autour de la tumeur se voit augmentée via l'activation des promoteurs PII, I.3 et I.7. L'aromatase est responsable de la synthèse des oestrogènes, hormones stéroïdiennes impliquées dans la division cellulaire et le développement du tissu mammaire. L'exposition à certains contaminants environnementaux est associée à une augmentation de l'expression de l'aromatase. Afin de déterminer si une exposition à des pesticides peut modifier l'expression de l'aromatase via les promoteurs impliqués dans le cancer du sein, une méthodologie de la mesure de l'expression de ses promoteurs spécifiques a été établie en utilisant la RT-qPCR, dans des cellules cancéreuses surrénales humaines (H295R) ainsi que dans des cellules endothéliales (HUVEC). Ces deux types de cellules ont été exposés à la forskoline (10 µM), à l'herbicide atrazine (0,3, 3,10 et 30 µM), au fongicide vinclozoline (10, 30 et 100 µM), ainsi qu'à trois pesticides néonicotinoïdes (imidaclopride, thiamethoxam et thiaclopride) (10, 30 et 100 µM). Chez les H295R, l'atrazine a induit l'activité des promoteurs PII et I.3 de l'aromatase de façon dose-dépendante, jusqu'à 6.7 fois par rapport au contrôle (DMSO). Le vinclozoline induit également l'activité de PII et I.3, jusqu'à 3.7 fois par rapport au contrôle. Le thiaclopride et le thiamethoxam, à 30 µM, induisent l'expression de l'aromatase via PII et I.3 jusqu'à 2.15 fois par rapport au contrôle. Les expérimentations avec les cellules HUVEC, qui expriment l'aromatase via le promoteur I.7 sont en cours. Les résultats préliminaires démontrent toutefois que l'expression de l'aromatase se voit également fortement augmentée dans les cellules HUVEC exposées à l'atrazine. Ce projet est d'une importance certaine puisqu'il permettra d'évaluer l'effet de certains contaminants sur l'expression de l'aromatase, enzyme important dans le développement de cancer du sein hormono-dépendant. Ce projet est en partie financé par le California Breast Cancer Research Program, que nous tenons à remercier.

O2.3

Évaluation du rôle de Connexine 43 dans l'organogenèse des glandes mammaires par un nouveau modèle de co-culture 3D

Busby M, Plante I

INRS-Institut Armand-Frappier

Les jonctions gap (GJ) sont des ensembles de canaux protéïniques permettant une communication directe entre deux cellules, un processus appelé « Gap Junctional Intercellular Communication (GJIC) ». La connexine 43 (Cx43), une protéïne de GJ, est nécessaire à la morphogenèse des glandes mammaires. Une diminution de son expression est associée avec un développement anormal de l'épithélium mammaire ainsi qu'au cancer du sein. Dans les glandes mammaires, l'unité fonctionnelle de l'épithélium est l'acini à deux couches. Les interactions cellulaires au sein de chaque couche (homotypique) ou entre les deux couches (hétérotypiques) sont nécessaires à la polarisation et à la différenciation complète de l'épithélium. La Cx43 est exprimée dans les cellules myoépithéliales de la couche extérieure et potentiellement par les cellules luminales de la couche interne. Les modèles de culture cellulaire classiques (en 2D) ne permettent pas de récapituler cette structure retrouvées *in vivo*. Cette étude donc vise à développer un modèle de co-culture 3D afin de comprendre le rôle de la Cx43 et de la GJIC dans la formation de l'épithélium mammaire. Les analyses par immunobuvardage de type western et immunofluorescence ont démontré que les lignées cellulaires luminales (SCP2) et myoépithéliales (SCG6) expriment les protéïnes de GJ Cx32 et Cx43 ainsi que les protéïnes de jonctions adhérentes E-cadhérine et β -catéïne. Nos résultats préliminaires montrent que dans le Matrigel, en présence d'hormones lactogènes (prolactine, hydrocortisone, insuline), les deux types cellulaires forment des acini avec un lumen. Ensemble, ces résultats suggèrent que SCP2 et SCG6 peuvent récapituler *in vitro* la structure d'acini à 2 couches de la glande mammaire. Dans le futur, l'utilisation de shARN pour réduire l'expression de Cx43 ou d'inhibiteurs de GJIC permettra d'évaluer l'impact d'une baisse de communication sur la formation des acini à double couche. Le développement d'un modèle d'acini *in vitro* mènera non seulement à une meilleure compréhension du rôle de la communication entre les cellules myoépithéliales et luminales, mais permettra également d'étudier des aspects importants du développement normal et pathologiques des glandes mammaires. Recherche supportée par le CRSNG, le FQRNT, le SRC et le FCSQ.

O2.4

Rôle anti-tumoral de la galectine-7 dans le cancer de la prostate

Marilyne Labrie¹, Andrée-Anne Grosset^{1,2}, Maria-Claudia Vladou¹, Louis Gaboury² et Yves St-Pierre¹

¹ IAF, Laval, Québec, Canada

² IRIC, Montréal, Québec, Canada

La galectine-7 (gal-7) est une lectine animale qui participe à plusieurs processus physiologiques tels que la cicatrisation, l'apoptose et la migration cellulaire. Exprimée dans les épithéliums stratifiés, son expression est dérégulée dans différents types de cancer. Dans le cancer du sein, elle est associée à un faible taux de survie. À l'inverse, la présence de gal-7 dans le cancer du colon est associée à un bon pronostic. Une hypothèse expliquant ces fonctions inverses serait la distribution intracellulaire de gal-7 qui varie selon le type tissulaire. La distribution de gal-7 dans les cellules basales de l'épithélium mammaire est similaire à celle de la glande prostatique. Bien que la fonction de gal-7 dans la glande mammaire ait été caractérisée, son rôle dans le cancer de la prostate demeure inconnu. L'objectif de ce projet est de déterminer le rôle de gal-7 dans le cancer de la prostate et d'évaluer l'influence de sa localisation intracellulaire sur ses fonctions. À l'aide de micro-matrices tissulaires, nous avons démontré que l'expression de gal-7, retrouvée dans les cellules basales de l'épithélium prostatique, est réprimée dans les carcinomes prostatiques. Lorsque gal-7 est surexprimée dans les cellules cancéreuses DU-145, elle augmente leur sensibilité à l'apoptose induite par des agents chimiothérapeutiques. Nos études in vitro ont également démontré que gal-7 diminue la motilité des cellules cancéreuses et inhibe leur pouvoir invasif. Une étude de sa localisation intracellulaire a permis de révéler que gal-7 est retrouvée dans le cytoplasme, le noyau et les mitochondries des cellules cancéreuses prostatiques. La surexpression de gal-7 mutée en position 74, qui est déficiente pour la localisation nucléaire et mitochondriale, nous a permis de démontrer que la fonction pro-apoptotique de gal-7 est indépendante de la localisation mitochondriale et nucléaire. Cependant, nous avons mis en évidence que la protéine mutée est incapable de moduler le potentiel invasif. L'ensemble de ces résultats démontrent que gal-7 a une fonction pro-apoptotique dans le cancer de la prostate et qu'elle réduit le potentiel invasif des cellules tumorales.

O2.5

Utilisation d'anticoagulants oraux et risque de cancer de la prostate : une étude cas-témoins à base populationnelle

Audrey Blanc-Lapierre, Deborah Weiss, Marie-Elise Parent

INRS – Institut Armand-Frappier

Des données épidémiologiques parues récemment suggèrent un rôle protecteur des anticoagulants dans le développement du cancer de la prostate (CaP). Toutefois, ces études ne prenaient pas en compte certains facteurs de confusion potentiels. Nous répondons à ces limites dans le contexte d'une vaste étude cas-témoins menée en population générale dans la région de Montréal, où nous investiguons le risque de CaP en relation avec la prise antérieure d'anticoagulants. Les 1588 cas incidents, histologiquement confirmés, âgés de 75 ans ou moins, ont été diagnostiqués dans sept des neuf hôpitaux francophones de la région de Montréal entre septembre 2005 et décembre 2009. Dans le même temps, 1618 témoins ont été sélectionnés aléatoirement à partir des listes électorales francophones des circonscriptions où résidaient les cas, puis appariés aux cas selon le groupe d'âge (± 5 ans). La régression logistique a été utilisée pour estimer le rapport de cotes (RC), et l'intervalle de confiance (IC) à 95%. Au total, 102 sujets (2,6% des cas et 3,7% des témoins) ont rapporté avoir pris des anticoagulants oraux plus d'un an avant le diagnostic (cas) ou l'entrevue (témoins). La durée moyenne de l'anticoagulo-thérapie orale était de 5 ans. Une anticoagulo-thérapie orale antérieure n'était pas significativement associée avec le risque de CaP (RC=0,76, 95% IC : 0,50-1,16), après ajustement sur l'âge, la descendance ethnique, un antécédent familial de CaP, la fréquence de dépistage, le diabète, l'indice de masse corporelle et la prise de statines. Des résultats similaires étaient observés dans les analyses restreintes aux sujets ayant eu un dépistage récent, ou effectuées séparément pour les cas non-agressifs (RC=0,80, 95% IC : 0,50-1,28) et agressifs (RC=0,70, 95% IC : 0,37-1,34). L'association ne variait pas sensiblement selon le délai depuis la 1ère utilisation, l'utilisation actuelle, la durée de l'utilisation ou l'indication (prophylaxie primaire ou secondaire). Les faibles associations observées dans notre étude ne sont pas en faveur d'un rôle bénéfique de la prise d'anticoagulants oraux dans la prévention du cancer de la prostate, et ce d'autant plus lorsqu'on considère les risques hémorragiques liés à l'usage de ces médicaments.

O3.1

Le curcumin restaure le système redox et protège les neurones contre la toxicité induite par l'acroléine

Abdenour Belkacemi, Charles Ramassamy

INRS-Institut Armand Frappier

Le curcumin, un polyphénol largement utilisé pour sa saveur comme épice dans le curry. Son utilisation a longuement été restreinte aux pays d'Asie. Où, d'une façon intéressante, la prévalence de la maladie d'Alzheimer (MA) est plus faible. Depuis, le curcumin a fait l'objet de moult d'études, témoignant de ces effets pléiotropiques incluant les effets antioxydants et anti-amyloïde. Le stress oxydatif est un mécanisme précoce dans la physiopathologie de la MA. Ainsi, le niveau d'un des ses sous-produits, l'acroléine, est élevé dans des régions cérébrales vulnérables à un stade précoce de la MA. En tant qu'inducteur du stress oxydatif, l'acroléine affecte les défenses antioxydantes des cellules neuronales. Le but de cette étude est d'élucider les effets du curcumin sur la toxicité induite par l'acroléine sur des cellules du neuroblastome humain, SK-N-SH. Les tests de mort et de survie cellulaires sont analysés en utilisant les kits Lactate Déshydrogénase et Tox-8, respectivement. Les espèces réactives oxygénées (ROS) ainsi que le niveau de glutathion sont mesurés par les sondes fluorescentes DCF-DA et Monochlorobimane, respectivement. L'expression/activation des protéines et translocation des facteurs de transcription sont conduites par western blot. Nos résultats montrent que le curcumin protège les cellules contre l'acroléine à partir d'une concentration aussi faible que 5µM. Ils montrent également un effet rapide de l'acroléine sur la déplétion de glutathion, l'augmentation des protéines carbonylées ainsi que les ROS. Cependant, le curcumin n'a d'effet que sur l'atténuation des ROS se traduisant par une restauration de la γ -glutamylcystéine. De plus, le curcumin prévient l'augmentation de l'expression de Sirt1, l'activation d'Akt et des facteurs de transcription Nrf2 et NF- κ B induites par l'acroléine. Enfin, le curcumin est donc capable de protéger les cellules contre les dommages causés par l'acroléine, ceci grâce à ses effets antioxydants, mais surtout par sa capacité à moduler les voies de signalisation redox et de survie cellulaire*. Enfin, ces données renforcent l'importance de la nutrition en général et du curcumin en particulier dans la prévention des maladies neurodégénératives telle que la MA. *Dogui, Belkacemi, et al. (2013). *Mol Nutr Food Res* 57(9)

O3.2

Étude sur la dynamique de dénitrification et la diversité bactérienne d'un biofilm dénitrifiant retrouvé au Biodôme de Montréal

G. Payette, C. Martineau, F. Mauffrey, R. Villemur

Institut Armand-Frappier

En grande concentration, le nitrate est toxique pour la faune aquatique. Le Biodôme de Montréal utilise une filière de dénitrification opérée en mode continu pour abaisser la concentration de cet ion dans le mésocosme du St-Laurent marin. La filière était supplémentée en méthanol et contenait des supports colonisés par un biofilm formé d'une quinzaine d'espèces bactériennes endogènes. Deux méthylotrophes, *Hyphomicrobium nitrativorans* NL23 et *Methylophaga nitratireducens* JAM1, ont été identifiées comme dominantes dans ce système. Dans le bioréacteur, le biofilm n'offrait pas une performance optimale. Nous proposons le mode cuvée, pendant lequel l'eau à traiter entre en contact avec le biofilm en une fois puis est incubée jusqu'à la disparition du nitrate et du nitrite, comme une alternative pour augmenter les capacités de dénitrification du biofilm. Ce projet vise donc à évaluer l'impact du mode cuvée sur la dynamique de dénitrification et la diversité bactérienne du biofilm. Le biofilm récupéré du bioréacteur a été dispersé et cultivé en mode cuvée et en conditions dénitrifiantes dans des fioles contenant de l'eau de mer artificielle supplémentée avec du NaNO₃ et du méthanol. Des supports vides permettant le développement du biofilm ont été ajoutés dans les fioles et ont été transférés hebdomadairement en milieu frais pendant plus de 22 semaines. Un taux de dénitrification maximal de 1,5 mg-N L⁻¹ h⁻¹ mg⁻¹ protéines a été atteint pendant le 5^e transfert. L'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant a démontré une stabilisation de la population bactérienne à partir du 4^e repiquage. Alors que les souches JAM1 et NL23 étaient retrouvées au même niveau dans le bioréacteur, les analyses de PCR quantitative ont montré que la souche NL23 tend à disparaître au fil des transferts, contrairement à JAM1. Des essais visant à identifier les paramètres physicochimiques pouvant influencer la dénitrification en mode cuvée ont permis de déterminer que des concentrations de 600 à 1500mg-N/L de NaNO₃ et de 0,15 à 0,5% de méthanol sont optimales. L'impact du pH, de la température et du NaCl est en cours. À ce jour, le mode cuvée s'avère une alternative intéressante pour améliorer les performances du bioréacteur.

03.3

L'exposition aux phtalates, PBDE, et SGB comme cause potentielle de l'autisme

S. Degroote, G. Sébire, L. Takser

Faculté de Médecine et Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Québec, Canada

INTRODUCTION:La prévalence des Troubles du Spectre Autistique (TSA) explose pour atteindre 1/88 enfant en 2011. Les données épidémiologiques suggèrent que: (i)l'exposition périnatale aux phtalates/PBDE (ignifuges) affecte le développement mental et moteur, et altère les comportements; (ii)il existerait un lien entre TSA et infection pendant la grossesse, et l'infection au Streptocoque de Groupe B (SGB) est très fréquente chez la femme enceinte. Notre hypothèse est que la combinaison de ces agressions courantes (phtalates/PBDE/SGB) durant une période prénatale critique provoque des TSA. Notre objectif est de développer un modèle animal et explorer l'étendue des comportements autistiques des rats suite à cette triple exposition. **MÉTHODES:** 25 rates Lewis gestantes réparties en 4 groupes:(i) contrôle; (ii) mixture à faible dose de phtalates (DEHP, DBP, DiNP) et PBDE (47 et 99); (iii) mixture précédente et SGB inactivé; (iv) contrôle positif établi selon la littérature (valproate 600mg/kg). Des tests ont été conduits pour caractériser les comportements (nest-seeking behavior, open field, elevated plus-maze, pre-pulse inhibition, interactions sociales). **RÉSULTATS:** Les rats exposés à la mixture seule ont une tendance hyperactive. Les rats mâles exposés à la mixture et SGB, ont montré une diminution de l'attachement maternel. Pour le test du prepulse inhibition, nous proposons une analyse statistique non conventionnelle avec un modèle mixte. Il permet d'analyser la variabilité intra- et inter-individus, caractéristique majeure des phénotypes autistiques, et nous pouvons observer une désorganisation des profils sensoriels de réponse aux stimuli auditifs pour le groupe exposé à la mixture. Nous avons aussi observé un effet dramatique du valproate sur la gestation (résorption embryonnaire) et sur le développement des rats (retard de développement et d'acquisition de réflexe). **CONCLUSION:**L'exposition prénatale aux phtalates et PBDE altère les comportements des rats vers une hyperactivité, mais étonnamment les rats ayant la co-exposition avec le SGB sont peu différents des contrôles bien qu'ils montrent un manque d'attachement maternel. Les futures analyses se porteront sur les interactions de la mixture avec la génétique.

03.4

L'expression du régulateur global post-transcriptionnel RsmA s'auto-régule négativement chez le pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa*

Fabrice Jean-Pierre, Mariane Séguin, Jonathan Perreault, Eric Déziel

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc, Canada,

La régulation post-transcriptionnelle est un atout nécessaire présent chez les bactéries afin de pouvoir s'adapter rapidement à des environnements changeants. La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste qui peut coloniser une variété de niches environnementales et peut être la cause de diverses infections chez des individus immunodéprimés. Ces infections chez l'Homme peuvent être aiguës ou chroniques. *P. aeruginosa* contrôle l'expression de plusieurs gènes de virulence par la communication intercellulaire ou quorum sensing (QS). Le régulateur post-transcriptionnel RsmA est un des facteurs qui interagit avec le QS chez cette bactérie. Ce régulateur est central dans la transition entre les types d'infections aiguë et chronique en réprimant la traduction des ARN messagers (ARNm) nécessaires pour l'établissement d'une infection chronique. L'activité de RsmA est régulée au niveau post-transcriptionnel par les petits ARN (pARN) RsmY et RsmZ qui peuvent séquestrer RsmA et conséquemment affecter la concentration globale de la protéine active. Étonnamment, peu d'information est disponible sur la régulation du gène *rsmA*. Pour mieux comprendre et caractériser cette régulation, nous avons construit deux rapporteurs lacZ : un transcriptionnel et l'autre, traductionnel. L'expression de *rsmA* a été mesurée chez plusieurs mutants. Suite à nos expériences préliminaires, il a été déterminé que l'absence d'un ou des deux pARN RsmY et RsmZ résulte en une diminution de la traduction de *rsmA* ce qui suggère une régulation indirecte. Aussi, l'identification des sites potentiels d'initiation de la traduction de *rsmA* par la méthode de 5' RACE a révélé que plusieurs sites-cibles de RsmA sont présents sur l'ARNm *rsmA*. En performant des tests de retard sur gel, nous avons établi que RsmA est en mesure de lier son propre ARNm et que cette interaction nécessite la présence d'un site de reconnaissance de ce régulateur post-transcriptionnel dans la séquence codante de cette dernière. Somme toute, nos résultats démontrent que RsmA est capable de s'auto-réguler directement en inhibant sa propre traduction.

O3.5

Caractérisation des déterminants moléculaires de la protéine 6K2 du TuMV dans la biogenèse des complexes viraux cellulaires de réplication du TuMV.

Jun Jiang¹, Juan Wan¹, Maxime Agbeci¹, Daniel Garcia¹, Romain Grangeon¹, Huanquan Zheng² et Jean-François Laliberté¹

¹ Institut National de la Recherche Scientifique (INRS), Institut Armand-Frappier,
531 Boulevard des Prairies, Laval, Québec, Canada H7V 1B7

² Department of Biology, McGill University, Montreal, QC, Canada

Le virus de la mosaïque du navet (TuMV) est un virus à ARN simple brin à polarité positive. L'infection de la plante hôte par le TuMV, se traduit au niveau cellulaire par une réorganisation du système sécrétoire induisant ainsi la formation de deux types de structures: une large structure globulaire périmoléculaire et de nombreuses vésicules mobiles associées au réticulum endoplasmique (RE). Cependant, les déterminants moléculaires responsables de la formation de ces structures induites par la protéine 6K2 demeurent inconnus à ce jour. La prédiction de structures secondaires de la protéine 6K2, révèle la présence d'un domaine N-terminal de 19 acides aminés, d'un domaine transmembranaire (TMD) de 23 acides aminés et d'un domaine C-terminal de 11 acides aminés. Des expériences de fractionnement cellulaire associées à différents traitements chimiques, nous ont permis de montrer que la protéine 6K2 est une protéine membranaire intégrale. Des délétions successives de certains triplets de nucléotides du domaine N-terminal ont été effectuées. Ces délétions se sont traduites par une rétention de la protéine 6K2 dans le RE et une accumulation de celle-ci dans la structure globulaire périmoléculaire. Un résidu d'acide aminé tryptophane très conservé en position numéro 15 a été remplacé par un résidu d'acide aminé alanine (W15A). La séquence nucléotidique comportant la substitution W15A dans 6K2 a été introduite dans un clone infectieux du TuMV. Cette mutation n'a pas affecté la réplication du TuMV, mais a eu pour conséquence d'inhiber le mouvement intercellulaire de ce dernier. Tous ces résultats indiquent que le domaine N-terminal de la protéine 6K2 contient un motif d'export du RE qui est indispensable au mouvement du TuMV.

O4.1

Frizzled 6 promeut l'engagement vers le lignage granulo-macrophagique et inhibe la différenciation lymphocytaire

Belma M. Abidin et Krista Heinonen

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC, CANADA

Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) possèdent la capacité de renouveler ainsi que de se différencier en tous les types de cellules sanguines. L'équilibre hématopoïétique dépend non seulement de la prolifération appropriée des CSH mais aussi de la détermination de leur destin. De plus, la spécification et la différenciation des lignées lymphoïdes et myéloïdes à partir de cellules souches dans la moelle osseuse est une étape cruciale pour l'hématopoïèse.

Récemment, nous avons identifié une nouvelle voie signalétique Wnt non traditionnelle (non-classique) impliquée dans la régulation de la fonction des CSH, ainsi que leur nombre, dans la moelle osseuse murine. Dans ce contexte, nous nous intéressons à explorer le rôle du récepteur Frizzled6 (Fzd6) dans la différenciation cellulaire des progénitrices myéloïdes ainsi que lymphoïdes. Afin de mieux comprendre la contribution de la voie de signalisation Fzd6 dans l'état stationnaire (en équilibre) de l'hématopoïèse, nous avons effectué une étude fonctionnelle ainsi qu'une analyse par cytométrie en flux de la moelle osseuse et de la rate des souris déficientes en Fzd6 (souris adultes et nouvellement sevrés). Dans ce travail, nous démontrons que, le récepteur de signalisation Fzd6 n'est pas nécessaire pour la prolifération des cellules myéloïdes progénitrices durant les premiers stades, alors qu'il reste déterminant pour la maturation de ces cellules. De plus, Fzd6 induit une forte suppression de la signalisation du facteur Flt3. Ce dernier est connu pour sa contribution à l'arrêt de la différenciation des cellules myéloïdes. Par conséquent, les souris déficientes en Fzd6 montraient d'une part, un défaut de différenciation de la lignée granulocytaire, et d'autre part, ces souris promouvaient une spécification lymphoïde par l'augmentation, dans la moelle osseuse, du nombre des progénitrices pluripotentes qui expriment Flt3. Ces résultats suggèrent que le récepteur Fzd6 régule l'engagement et la différenciation des lignages lymphoïdes et myéloïdes dans la moelle osseuse.

O4.2

Le motif de localisation nucléaire des protéines de la capside du parvovirus porcin : un mécanisme de contrôle de la qualité de l'assemblage en trimères.

Maude Boisvert et Peter Tijssen

INRS-Institut Armand Frappier

Les protéines cellulaires utilisent différents motifs dans leur séquence afin de se localiser à l'endroit requis pour exercer leur fonction. Le motif requis pour les protéines devant se rendre au noyau est composé d'une courte séquence d'acides aminés basiques en continu appelée « signal de localisation nucléaire » (NLS). Le parvovirus porcin (PPV) utilise la machinerie cellulaire du noyau afin d'amplifier son génome. Les protéines structurales, synthétisées au cytoplasme doivent donc se rendre au noyau afin de s'assembler en capsid et d'y insérer le génome, créant de nouvelles particules virales. La capsid du PPV est composée de deux types de protéines : VP1 et VP2. Suite à leur synthèse, les protéines sont spontanément assemblées en trimères qui seront transportés au noyau avant l'assemblage en capsid. Il découle du ratio VP1:VP2 de 1:10 dans la capsid que les trimères contiennent soit trois protéines VP2 ou bien deux protéines VP2 et une protéine VP1. Des travaux antérieurs ont démontré que seule la partie unique de la protéine VP1 contient des séquences correspondant à des NLS actifs. Le transport de VP2 au noyau est donc assuré par un signal non classique. Il a été démontré pour le parvovirus MVM, un proche parent du PPV, que le transport de VP2 au noyau est assuré par la présence d'un motif de localisation nucléaire (NLM). Ce motif contient 5 acides aminés basiques, situés dans un Feuillet- β (11 résidus) de sorte que le repliement de la protéine permet le rapprochement de ces résidus et ultimement le transport au noyau. Ce NLM est peu conservé chez le PPV. Nous avons identifié plusieurs résidus intéressants et ceux-ci ont été remplacés par mutagenèse dans le clone infectieux. Des transfections permettent alors de déterminer quels acides aminés sont importants pour le transport de VP2 au noyau, et si ces résidus sont importants pour la réplication virale. Nos travaux ont démontré que le NLM du PPV est différent du NLM de MVM, et le repliement correct de la protéine est essentiel au rapprochement des acides aminés basiques. Ainsi, le PPV possède un mécanisme efficace permettant de transporter au noyau seulement les trimères correctement repliés, favorisant la production de virus infectieux.

O4.3

Effet neuroprotecteur et antiviral de la mémantine contre un coronavirus respiratoire humain neuroinvasif et neurovirulent

Élodie BRISON, Hélène JACOMY, Marc DESFORGES, Pierre J. TALBOT

Laboratoire de neuroimmunovirologie, INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

L'étiologie des maladies neurologiques est souvent multifactorielle, impliquant à la fois des facteurs génétiques et environnementaux, notamment des infections virales. Les coronavirus humains sont des pathogènes très répandus, responsables de diverses affections des voies respiratoires. Notre laboratoire a démontré que la souche HCoV-OC43 est neurotrope, neuroinvasive et neurovirulente, et que l'apparition d'une mutation (Y241H) dans la protéine virale de surface (S) (virus nommé rOC/US241), suite à une infection persistante de cellules neurales humaines, modifie la neuropathologie chez la souris. En effet, tandis que l'infection par la souche virale de référence induit une encéphalite, les souris infectées par rOC/US241 présentent des problèmes moteurs pouvant conduire à une paralysie totale des membres postérieurs, accompagnée d'une démyélinisation. L'excitotoxicité est un processus pathologique par lequel le glutamate, neurotransmetteur excitateur principal du système nerveux central (SNC), peut induire la mort de neurones par une entrée massive d'ions calcium, principalement suite à une hyper-stimulation des récepteurs ionotropes NMDA. La mémantine, un inhibiteur spécifiques de ces récepteurs, est utilisé chez l'humain pour le traitement de maladies neurologiques comme l'Alzheimer et la sclérose en plaques. Un traitement avec une faible dose de mémantine (3 $\mu\text{g/g}$) diminue les problèmes moteurs et la paralysie des souris infectées par rOC/US241 en atténuant les dysfonctionnements neuronaux. De plus, une diminution de l'expression du transporteur glial du glutamate (GLT-1) ainsi que de la glutamine synthétase, tous deux essentiels à la régulation de l'homéostasie du glutamate dans le SNC, est aussi observée suite à l'infection, et le traitement par la mémantine rétablit leur expression à un niveau quasi physiologique. Enfin, l'utilisation de fortes doses de mémantine (5, 10 et 30 $\mu\text{g/g}$) montre un effet antiviral contre HCoV-OC43, suggérant l'utilisation de la mémantine pour le traitement de maladies neurologiques à étiologie virale chez l'humain. (Subventionné par l'IMIL des IRSC, Chaire de recherche du Canada et bourse de la Société canadienne de la sclérose en plaques à E.B.).

O4.4

Mécanismes impliqués dans l'apparition tardive des anticorps contre un antigène exogène durant une infection par le virus de la chorioméningite lymphocytaire

Daugan M. et Lamarre A.

INRS-IAF

Les infections virales persistantes (Hépatites B et C, SIDA) sont un réel problème de santé publique mondiale. Une des particularités de ces infections et de présenter, contrairement aux infections aiguës, une apparition très tardive des anticorps neutralisants. Au jour d'aujourd'hui les causes précises de ce retard sont toujours inconnues.

Afin de mieux comprendre les causes du retard d'apparition des anticorps, nous étudions dans le cadre de ce projet la réponse montée contre un antigène, le 4-hydroxy-3-nitrophenyl (NP), dans le contexte d'une infection par le virus de la chorioméningite lymphocytaire (LCMV), un modèle bien caractérisé d'infection virale chronique.

Nous avons montré que contrairement à lors d'une infection par le virus de la stomatite vésiculaire (VSV, modèle d'infection aiguë), une infection à LCMV s'accompagne d'un retard de la réponse en anticorps montée contre le NP. Ce retard est un phénomène T-dépendant qui se manifeste dès les premiers moments suivant l'immunisation et s'étale sur une vingtaine de jours. Cette modification de la réponse spécifique s'accompagne d'une activation polyclonale des lymphocytes B, entraînant une hypergammaglobulinémie non-spécifique très marquée.

Lors de l'infection par LCMV, les lymphocytes T auxiliaires folliculaires (T_{FH}) sont exacerbés par rapport aux souris infectées avec VSV, alors que le nombre total de CD4 est quant à lui diminué. Cette croissance s'accompagne d'une sécrétion accrue d'IL-4 et IL-21, connues pour être impliquées dans le processus de maturation d'affinité. Il est intéressant de noter que cette capacité sécrétoire accrue est corrélée à une surexpression de marqueurs d'activation tels qu'ICOS et PD-1 sur les T_{FH} , ainsi que des ligands de PD-1 sur les lymphocytes B : PD-L1 et PD-L2.

Afin d'essayer de renverser le phénotype de retard d'apparition des anticorps, des expériences de blocage de voies impliquées dans la reconnaissance du virus (TLR7, RIG-I) ou l'activation des cellules (PD-1, ICOS) sont en cours. En cas de succès on peut s'attendre à observer, une apparition plus précoce des anticorps dirigés contre le NP, des anticorps neutralisants dirigés contre le virus ou encore une diminution de l'hypergammaglobulinémie.

O4.5

CD28 contrôle la maturation fonctionnelle des cellules NKT

Mitra Yousefi et Pascale Duplay

Institut National de la Recherche Scientifique-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, Canada

Les cellules NKT possèdent des caractéristiques fonctionnelles et de domiciliation tissulaire qui sont différentes des cellules T conventionnelles. Dans cette étude nous avons analysé le rôle de CD28 dans le développement des cellules gamma-delta et alpha-beta NKT chez la souris. Les souris déficientes pour l'expression de CD28 ont un nombre réduit de cellules NKT par rapport aux souris de type sauvage. Nous avons délimité l'étape à laquelle CD28 intervient au cours du développement des cellules NKT et démontrons que CD28 contrôle la maturation des cellules NKT par un mécanisme cellulaire autonome. La régulation par CD28 des cellules NKT se traduit notamment par une réduction du nombre de cellules NKT qui produisent de l'IL-4. Étant donné que l'IL-4 dans le thymus permet le développement des cellules T CD8 ayant des propriétés innées, nous avons aussi analysé les conséquences fonctionnelles de l'absence de CD28 sur la population de thymocytes CD8+. Nous montrons que CD28 contrôle le nombre de thymocytes CD8+ ayant des caractéristiques de cellules innées. Ces résultats démontrent l'importance que pourrait avoir CD28 au cours des réponses immunitaires immédiatement suite à une infection.

05.1

Régulation post-traductionnelle du facteur de fragmentation de l'ADN (DFF) lors de l'apoptose.

Bruno Johnson, David Bernier et Jacques Bernier.

INRS-IAF

La fragmentation de l'ADN représente un point de non-retour pour la cellule à éliminer et permet de réduire les risques de transfert de gènes mutés aux phagocytes. Le facteur de fragmentation de l'ADN (DFF) est majoritairement responsable de la fragmentation internucléosomale de l'ADN et est formé de l'endonucléase DFF40/CAD et de son inhibiteur, le DFF45/ICAD. Le contrôle de l'activité du DFF40 et de sa localisation est mal compris. Notre laboratoire a démontré qu'une déficience en CD45, une tyrosine phosphatase, provoquait l'accumulation cytoplasmique du DFF40 et l'absence de fragmentation de l'ADN lors de l'apoptose des lymphocytes T. Notre hypothèse est que des modifications post-traductionnelles du DFF40 et du DFF45 sont impliquées dans la régulation de l'activité et de la localisation du DFF. Nos objectifs sont d'identifier les modifications régulant le DFF et de déterminer leur impact sur la fragmentation de l'ADN. Les cellules Jurkat ont été transfectées avec le plasmide PCMV6-entry codant ou non pour la protéine DFF40 lié à FLAG ou GFP. La présence de sites *O*-glycosylés a été déterminée par immunobuvardage, après avoir isolé le DFF40 ou DFF45 par immunoprécipitation. Les résultats obtenus jusqu'à présent démontrent que le DFF40 est *O*-glycosylé et que cette modification favorise la translocation de la protéine vers la membrane cytoplasmique. Par mutagenèse dirigée, les résidus S172 et S245 ont été identifiés comme pouvant être glycosylés. Nos résultats indiquent que la protéine se lierait à la vimentine *O*-glycosylée, qui quitte le cytosquelette pour s'accumuler également dans la fraction membranaire. Notre projet de recherche est le premier à souligner l'importance des modifications post-traductionnelles dans la régulation de la fragmentation de l'ADN, de même qu'à identifier l'interaction entre le DFF et la vimentine. Nos résultats pourraient expliquer pourquoi les cellules surexprimant la vimentine mutée aux sites de clivage par les caspases ne présentent pas de fragmentation de l'ADN lors de l'apoptose, permettant de mieux comprendre l'importance de la réorganisation du cytosquelette lors de l'apoptose nucléaire.

05.2

Étude du mécanisme de biosynthèse des HAQ chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Carlos Eduardo Dulcey, Valérie Dekimpe, David-Alexandre Fauvelle, Sylvain Milot, Marie-Christine Groleau, Nicolas Doucet, Laurence G. Rahme, François Lépine et Eric Déziel.

INRS-IAF

Plusieurs groupes de bactéries pathogènes utilisent des petites molécules de signalisation diffusibles pour réguler leur virulence d'une manière concertée. *Pseudomonas aeruginosa* utilise le HHQ et le PQS qui font partie de la famille des 4-hydroxy-2-alkylquinolines (HAQs), comme molécules de signalisation. Nous avons démontré que l'acide octanoïque est directement incorporé dans le HHQ. Ce résultat élimine l'hypothèse formulée depuis plus de soixante ans qui postulait que les 3-cétoacides étaient les précurseurs des HAQ. Nous avons trouvé que la voie de biosynthèse des HAQ est un mécanisme qui comporte deux étapes. Premièrement, l'enzyme PqsD catalyse la biosynthèse du 2-aminobenzoylacétate (2-ABA) à partir de l'antranoyl-CoA et le malonyl-CoA. Deuxièmement, dans une réaction de decarboxylation le 2-ABA condense avec le groupe octanoate lié à PqsC donnant le HHQ. Celui-ci, est le précurseur direct de PQS. PqsB est étroitement associé avec PqsC et est requise dans la deuxième étape. Cette découverte offre une alternative prometteuse concernant le développement des médicaments anti-virulence spécifiques pour combattre ce pathogène opportuniste, pour lequel on a besoin d'alternatives aux traitements anti-infectieux traditionnels.

05.3

Analyse mutationnelle systématique de l'hydrolase putative PqsE : vers une meilleure compréhension moléculaire de l'acquisition de la virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*

Benjamin Folch, Eric Déziel, Nicolas Doucet

INRS-IAF

Pseudomonas aeruginosa est un important pathogène opportuniste de l'humain qui établit une communication bactérienne en synchronisant le comportement de cellules individuelles par un phénomène moléculaire appelé «quorum sensing». Ce mécanisme subtil impliquant les produits des gènes de l'opéron PQS engendre l'enzyme PqsE nécessaire à la synthèse des phénazines extracellulaires (telle la pyococyanine) et essentielle à l'acquisition du phénotype de complète virulence de *P. aeruginosa*. Malgré plusieurs études fonctionnelles et structurales visant à déchiffrer le rôle de cette cible thérapeutique, aucune fonction moléculaire n'a été attribuée à PqsE à ce jour. Afin de mettre en évidence les positions des résidus clés impliqués dans la fonction moléculaire de cette enzyme, nous avons effectué une série de mutants alanine visant à modifier la fonction biologique de PqsE. À l'aide de comparaisons de séquences et de superpositions structurales avec des homologues, nous avons identifié des positions cruciales au site actif putatif de PqsE et dans son environnement, révélant ainsi le rôle clé du motif en hélice situé en C-terminal de l'enzyme. Nos résultats suggèrent que le site actif de l'enzyme comprend également des résidus situés plus loin dans le noyau hydrophobe de la protéine et que son accès au solvant est régi par les deux hélices C-terminales jouant un rôle de clapet. Par ailleurs, en tenant compte de ces résultats, nous avons effectué le criblage virtuel de plus de 60 000 molécules à potentiel pharmaceutique dans le but d'identifier de potentiels inhibiteurs que nous testons actuellement par titrage iso-calorimétrique afin de contrer l'acquisition de la virulence de *P. aeruginosa* et d'aider à réduire les infections nosocomiales.

05.4

Prédire l'apparition de souches résistantes au clavulanate chez *Mycobacterium tuberculosis*

Hélène Carletti, Philippe Egesborg, Jordan Volpato, Nicolas Doucet

INRS-IAF, UQ, 531 Boul. des Prairies, Laval, QC, Canada

Aujourd'hui encore, la tuberculose reste une pandémie à travers le monde. *Mycobacterium tuberculosis* (TB) est cependant résistant à un grand nombre de traitements antibiotiques menant à l'apparition de souches multi-résistantes (*multi-drug resistant*, MDR) et extrêmement résistantes aux antibiotiques (*extensively-drug resistant*, XDR). Les antibiotiques à noyau β -lactame (pénicillines et céphalosporines), ne sont pas utilisés dans le traitement de TB, car trop rapidement hydrolysés par sa β -lactamase BlaC. Cependant, une combinaison expérimentale d'un β -lactame et d'un inhibiteur de β -lactamases dirigé contre BlaC a récemment démontré son efficacité (méro-pénème-clavulanate, MP-CLA). Cette combinaison s'est avérée efficace *in vitro* contre les souches MDR et XDR de TB, mais aussi en clinique, où un cas de guérison fut répertorié en Europe. Malheureusement, des résistances aux β -lactames sont apparues chez les protéines parentes à BlaC dès leur utilisation, conférant une large résistance aux inhibiteurs (IRT) chez ces homologues. Une fois le traitement MP-CLA approuvé en clinique, des mutations risquent fort d'apparaître chez BlaC pour le contrer. Son approbation par les pharmacopées étant imminente, il devient urgent de devancer le problème en prédisant l'évolution moléculaire de BlaC dans le but de développer de meilleurs inhibiteurs ciblant cette enzyme. Plusieurs mutations conférant une résistance au CLA sont connues chez les β -lactamases homologues de classe A. Situées au sein du site actif, elles ont été reproduites chez BlaC. Nos résultats indiquent que les mutants obtenus présentent une plus faible affinité et une moins bonne inactivation envers le CLA, résultant en une forte baisse de sa capacité d'inhibition. Parallèlement, d'autres études ont montré que les mutants IRT conservaieent leur capacité à hydrolyser l'ensemble des céphalosporines utilisées en clinique sans faire de compromis sur la stabilité de l'enzyme, et donc ses chances d'apparitions *in vivo*. En conclusion, nos résultats suggèrent que BlaC suivra fort probablement le chemin évolutif de ses homologues lors de l'introduction de la combinaison MP-CLA en milieu clinique, conférant une résistance aux antibiotiques à son hôte.

05.5

Exploration du méthylome de SMYD2 par la biologie des systèmes

Lanouette S., Davey J., Chica R., Figeys D., Couture J.-F.

Institut de biologie des systèmes d'Ottawa, Université d'Ottawa

La méthylation de lysines est une modification post-traductionnelle (MPT) répandue modulant plusieurs processus cellulaires tels que la transcription génique, la stabilité protéique et l'organisation du cytosquelette. Toutefois, contrairement aux autres MPTs, l'utilisation de la spectrométrie de masse ou d'anticorps pan-spécifiques s'est révélée insuffisante pour caractériser la méthylation des lysines à l'échelle cellulaire. Afin d'établir et de confirmer les substrats d'une lysine méthyltransférase (KMT) donnée, nous avons développé une méthodologie tirant partie d'essais biochimiques à haut débit supportés par la modélisation moléculaire et la spectrométrie de masse. Nous avons validé notre méthodologie pour SMYD2, une méthyltransférase connue pour métyler la chaperonne HSP90, les facteurs de transcription p53 et pRb et l'histone H3. Nos réactions de méthylation sur matrice peptidique semi-dégénérée et sur une collection de mutants nous ont permis de déterminer que l'activité de SMYD2 est dictée principalement par certaines positions de part et d'autre de la lysine cible (K*), définissant un motif spécifique. À partir de l'analyse de banques de données protéomiques et d'essais enzymatiques de mutants, nous avons validés quatre nouveaux substrats pour SMYD2. Nos résultats révèlent la spécificité de SMYD2 est complexe mais fournit une explication moléculaire pour son rôle dans la régulation de l'apoptose, de l'activité transcriptionnelle et du développement musculaire. Notre méthodologie ouvre la voie pour la caractérisation et la validation systématique de nouveaux sites de méthylation médiés par SMYD2 tout en mettant à jour une approche innovatrice pour l'identification de substrat pour une KMT.

AO1

Effet antiviral et anti-inflammatoire de l'isoliquiritigenin en contexte d'infection par le virus de l'influenza *in vitro*

Traboulsi H., Cloutier A., et Richter M.

Département de pharmacologie – Service de pneumologie, Faculté de Médecine, Université de Sherbrooke

Des infections avec les souches de virus H5N1 ou H1N1 sont très souvent accompagnées avec une tempête de cytokines pro-inflammatoire et en stress oxydative. La sécrétion importante des cytokines, médiée par le facteur transcriptionnel NF- κ B, a été associée à une dérégulation de l'inflammation et peut provoquer des défaillances organiques chez le patient, et parfois mortelles. C'est dans ce contexte que nous proposons de déterminer des composés pouvant inhiber la réplication virale dans la cellule hôte et diminuer l'inflammation causée par l'infection. Certains études ont montré que l'isoliquiritigenin, un flavonoïde naturel, peut être un ligand potentiel du récepteur nucléaire PPAR γ , et aussi capable d'inhiber la sécrétion des cytokines par NF- κ B dans les macrophages stimulés par TNF- α . En ce sens, nous avons donc utilisé l'isoliquiritigenin pour étudier son effet anti-inflammatoire et/ou antiviral contre une souche d'influenza A (A/PR/8/34 H1N1 (PR8)). Tout d'abord, par des essais luciféras nous avons démontré que l'isoliquiritigenin a semblé à la fois activer la voie du récepteur nucléaire PPAR γ et celle du facteur anti-oxydant NrF2, ainsi que de bloquer la voie du facteur de transcription NF- κ B. De plus, nos résultats montrent que l'isoliquiritigenin (20 μ M) inhibe significativement l'infection des cellules épithéliales pulmonaires (Calu-3) par PR8. Enfin, nous avons montré que l'isoliquiritigenin, et d'une façon dépendante du récepteur PPAR γ , réduit l'activité de NF- κ B activée suite à une infection par la souche d'influenza PR8. En résumé, jusqu'à présent nos résultats montrent, *in vitro*, l'effet antiviral et anti-inflammatoire de l'isoliquiritigenin contre la souche d'influenza A H1N1. Ceci donc suggère l'efficacité de l'isoliquiritigenin à diminuer la virulence d'une infection par l'influenza et peut ouvrir la porte pour un nouveau traitement contre la grippe.

AO2

Effet du plomb sur le transport et le récepteur 5-HT_{2A} de la sérotonine dans le placenta humain

Marc Fraser^{1,2}, Mélanie Viau^{1,2}, Joey St-Pierre^{1,2}, Julie Lafond^{2,3}, Donna Mergler^{2,3}, Céline Surette⁴, Cathy Vaillancourt^{1,2}

¹ INRS – Institut Armand-Frappier, Laval, QC ² Centre de Recherche BioMed, UQTR, UQÀM, INRS

³ Département des sciences biologiques, UQÀM, Montréal

⁴ Département de chimie et de biochimie, Université de Moncton, Moncton, NB

Une exposition maternelle au plomb (Pb) peut interférer avec le fonctionnement du placenta et altérer le développement du fœtus. Nous proposons qu'une exposition au Pb altère le transport et la signalisation de la sérotonine (5-HT) dans le trophoblaste placentaire humain. L'objectif de cette étude est de déterminer les effets d'une exposition à de faibles concentrations de Pb sur le transporteur (SERT) et le récepteur 5-HT_{2A} (5-HT_{2AR}) de la 5-HT dans le trophoblaste (*in vitro*) et le tissu placentaire (*ex vivo*) humains. Les cellules de choriocarcinome placentaire humain BeWo, modèle du trophoblaste, ont été exposées à des concentrations croissantes de Pb (0,1-1000 nM). Les concentrations de Pb du placenta, du sang maternel et du sang de cordon, recueillis d'une cohorte de femmes enceintes, ont été déterminées par ICP-MS. L'expression du SERT et du récepteur 5-HT_{2AR} a été évaluée par immunobuvardage et RT-qPCR. L'activité de SERT a été mesurée par capture de 5-HT tritiée. Un transfert transplacentaire du plomb est observé (Sang maternel : 0,09 μ M Pb; Sang de cordon : 0,06 μ M Pb). L'expression protéique du 5-HT_{2AR} ne varie pas suite à une exposition au Pb (*in vitro* et *ex vivo*). Une corrélation négative entre les concentrations de Pb dans le sang de cordon et l'expression protéique du SERT dans le tissu placentaire est observée (R = -,404; p < 0,05). L'activité du SERT et son expression protéique sont diminuées de 25-50 % comparativement au contrôle dans les cellules BeWo exposées *in vitro* au Pb. Ces résultats montrent que des concentrations Pb, acceptables selon les normes de Santé Canada, altèrent l'activité du SERT placentaire. Le mécanisme par lequel le Pb affecte le transport transplacentaire de la 5-HT reste à étudier.

AO3

Implication du facteur de transcription HIF-1 α dans l'infection chronique par le LCMV

Charpentier T, Hamami A, Kostenko M, Tarrab E, Lamarre A et Stäger S

INRS-Institut Armand-Frappier

Plusieurs études portant sur les interactions hôte-pathogène ont permis d'identifier des facteurs de l'hôte permettant l'établissement d'infections chroniques, au bénéfice de la survie de l'hôte. PD-1, IL-10 et Tim3 sont quelques uns de ces facteurs et ils agissent en limitant la force et la qualité des réponses immunitaires cellulaires. Plusieurs groupes évaluent actuellement l'implication du facteur de transcription *Hypoxia Induced Factor-1 alpha* (HIF-1 α) lors d'infections virales et il a jusqu'à maintenant été démontré que HIF-1 α est stabilisé dans les cellules cibles pour augmenter l'inflammation locale et que plusieurs virus, dont le VHC et plusieurs virus proangiogéniques, bénéficient de l'expression et/ou de la stabilisation de HIF-1 α pour soutenir leur réplication. C'est également le cas du virus de la chorioméningite lymphocytaire (LCMV), avec lequel il a été démontré *in vitro* que la fonction de HIF-1 α est essentielle pour augmenter l'expression de gènes viraux, la sécrétion et la transmission de virions infectieux. Puisque les cibles principales de l'infection par le virus persistant LCMV-C13 sont les cellules dendritiques (DC) et que ces cellules sont impliquées dans la modulation des réponses immunitaires protectrices, nous avons évalué l'importance de l'expression de HIF-1 α dans les DC pour la chronicité de l'infection. Nous avons donc infecté avec LCMV-C13 des souris dont l'expression de HIF-1 α est soit diminuée globalement ou abolie dans les DC et évalué leurs réponses immunitaires cellulaires. Nos résultats préliminaires démontrent que suite à l'infection de souris de type sauvage avec le virus persistant, la cinétique d'expression de HIF-1 α par les DC est similaire à celle d'autres facteurs de l'hôte associés à la persistance virale. Dans les deux modèles animaux testés, les réponses T CD8 et CD4 sont respectivement améliorées aux jours 9 et 15 post-infection par rapport aux souris contrôles. Mis en commun, nos résultats suggèrent que l'augmentation de l'expression ou la stabilisation de HIF-1 α dans les DC suite à l'infection par le LCMV-C13 limiterait l'activation des réponses T spécifiques au virus. Nous prévoyons maintenant vérifier s'il existe un lien entre l'expression de HIF-1 α et celle de l'IL-10. *Financé par les IRSC et la Fondation J-Louis Lévesque*

AO4

Identification d'un nouveau rôle régulateur de la protéine UL24 du virus de l'herpès simplex de type 1

Carolina Sanabria-Solano¹, Luc Bertrand¹, Yves Langelier² et Angela Pearson¹

¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Université INRS, Laval, Québec, CANADA

² Centre de Recherche, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montréal, QC,

Le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1), un virus neurotrope, affecte environ 80 % des humains. Il peut causer des feux sauvages, des kératites ou des encéphalites virales. Chez des patients immunosupprimés et chez les nouveau-nés, la maladie peut être très sévère. Le gène codant pour la protéine virale UL24 est conservé parmi tous les Herpesviridae. En culture cellulaire, un virus déficient en UL24 est particulièrement affecté dans son efficacité de réplication et de réactivation à partir de l'état de latence. Lors d'expériences préliminaires de co-transfection, nous avons trouvé que l'expression d'UL24 corrélait avec une réduction de l'expression de la grande sous-unité de la ribonucléotide réductase virale (R1), une enzyme impliquée dans la synthèse de l'ADN viral. Ces résultats ont mené à l'hypothèse qu'UL24 possède une fonction régulatrice de l'expression de gènes viraux. Nous avons confirmé cette hypothèse et montré que la protéine UL24 réduit l'expression de R1 par un effet au niveau de l'accumulation de ses transcrits. Pour tester la spécificité de cet effet, nous avons quantifié dans un contexte de transfection transitoire, l'expression de protéines et de transcrits de divers gènes viraux (ICP27, R2, TK) ainsi que de gènes non-viraux (mCherry et GST), et ce en présence ou en absence d'UL24. Nous avons observé qu'UL24 a affecté uniquement l'expression des transcrits et des protéines viraux testés et non ceux des gènes non-viraux. Afin de déterminer le mécanisme impliqué, nous avons évalué si la protéine UL24 affecte la stabilité des transcrits R1. Nos résultats ont montré que la stabilité des transcrits de R1 n'est pas affectée par UL24. Par la suite, nous avons voulu déterminer si UL24 affecte la transcription de R1. Nous avons donc évalué par un essai de nuclear run-on, le taux de synthèse des transcrits de R1 en présence et en absence d'UL24. Les résultats ont démontré qu'UL24 diminue de 60% le taux de synthèse des transcrits de R1. L'ensemble de ces données montre un nouveau rôle de la protéine UL24 dans la régulation de la transcription de gènes viraux.

A05

Hyphomicrobium nitratorans NL23 : une nouvelle espèce bactérienne isolée d'un biofilm dénitrifiant traitant l'eau salée au Biodôme de Montréal

C. Martineau, K. Vazquez, C. Villeneuve, F. Mauffrey, R. Villemur

INRS-IAF

Bien que les bactéries du genre *Hyphomicrobium* présentent un potentiel biotechnologique important, très peu d'études portent sur la caractérisation d'isolats appartenant à ce genre bactérien en raison de la difficulté à travailler avec ces bactéries en laboratoire. Dans le cadre de ce projet de recherche, la souche *Hyphomicrobium* sp. NL23, une bactérie méthylotrophe dénitrifiante isolée du biofilm d'un bioréacteur dénitrifiant traitant l'eau salée au Biodôme de Montréal, a été caractérisée. L'appartenance de la souche NL23 au genre *Hyphomicrobium* a été confirmée par microscopie électronique, qui a révélé la présence d'hyphes et de prosthèques typiques du genre, et par l'analyse des lipides membranaires et des quinones respiratoires. Le suivi de courbes de croissances a permis de déterminer que la souche NL23 peut croître en conditions aérobies à des pH entre 7.0 et 9.5, des températures entre 15 et 35°C et des concentrations de NaCl entre 0 et 1.0%. Le génome de la souche NL23 a été séquencé et annoté. L'analyse du génome a permis de valider la présence de gènes codant pour les quatre types de réductases nécessaires à une dénitrification complète (*napA*, *nirK*, *cnorB*, *nosZ*) chez la souche NL23. Des essais de culture en conditions dénitrifiantes ont confirmé la capacité de la souche NL23 à réaliser toutes les étapes de la dénitrification, et ce sous différentes conditions de pH, salinité et concentration en nitrate. Bien que l'analyse du gène *16S* ait indiqué une forte similarité de la souche NL23 avec la souche *Hyphomicrobium zavarzinii* ZV622 (99.4% d'identité), les résultats de l'hybridation ADN-ADN, les différences phénotypiques et la comparaison des génomes des deux souches ont indiqué qu'il s'agit bel et bien d'espèces différentes. Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude ont démontré que la souche NL23 appartient à une nouvelle espèce au sein du genre *Hyphomicrobium* et le nom *Hyphomicrobium nitratorans* a été validé. Cette étude fournit également des informations cruciales concernant la physiologie d'une bactérie versatile présentant un fort potentiel dans l'élimination des nitrates en eau salée. Ce potentiel sera exploré dans le cadre de projets futurs.

A06

Étude des propriétés pro-inflammatoires des nanoparticules d'argent chez les neutrophiles humains.

Rafael de Liz, Laurien B. A. Leonardi, David M. Gonçalves et Denis Girard.

Laboratoire de Recherche en Inflammation et Physiologie des Granulocytes, INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC, Canada.

Les nanoparticules d'argent (AgNP) sont connues pour avoir des propriétés antibactériennes et ont été également utilisées dans le traitement du cancer. Les neutrophiles sont la première ligne de défense contre les microbes qui, dans des conditions physiologiques normales, se dirigent en apoptose après environ 24 h. Cependant, au cours du processus inflammatoire les neutrophiles peuvent rester plus longtemps sur le site de l'inflammation. Le but de cette étude est d'investiguer les effets pro-inflammatoires des AgNP chez les neutrophiles humains. AgNP ont été caractérisées par diffusion dynamique de la lumière, ainsi que par microscopie électronique à transmission. Les neutrophiles ont été isolés à partir du sang de d'individus sains. L'apoptose a été évaluée en relation avec la participation des caspases-1 et -4, ainsi que d'espèces réactives oxygénées (ROS). Les effets des AgNP sur la production d'IL-1 β et ROS, ainsi que sur la formation de *neutrophil extracellular traps* (NET) ont été étudiés. AgNP (10 et 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ont rapidement (30-60 min) induit une apoptose atypique caractérisée par un gonflement anormal du noyau ($92.7 \pm 2.8\%$ après à peine 30 min, à 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Aux mêmes conditions, une augmentation de cellules annexine-V positives a été également observée. Ce processus a été renversé par les inhibiteurs de caspase-1 (~42% d'inhibition) et caspase-4 (~33%) ainsi que par le *n*-acétylcystéine (NAC) (~68%). AgNP ont aussi induit la production d'IL-1 β , qui a été renversée par les inhibiteurs de caspase-1 (~28 d'inhibition) et caspase-4 (~89%). Après 60 min, AgNP (25 et 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ont induit la formation de NET et la production de ROS ($P < 0.01$). AgNP ont rapidement induit une mort cellulaire atypique chez les neutrophiles humains. Cet effet a été médiée par caspase-1, -4 et ROS, ainsi que par la formation de NET, et la production d'IL-1 β . Il s'agit de la première étude démontrant un effet aussi rapide d'une nanoparticule sur l'apoptose des neutrophiles.

AO7

Nanoparticules comme vecteur thérapeutiques : Une nouvelle stratégie pour le traitement de la maladie d'Alzheimer

Siheem Doggui¹, Lé Dao² et Charles Ramassamy¹

¹ INRS-IAF, ² INRS-EMT

À ce jour, il n'existe aucun traitement efficace pouvant prévenir ou guérir la maladie d'Alzheimer (MA). Les seuls traitements disponibles sont les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et les antagonistes des récepteurs NMDA qui permettent uniquement de ralentir la progression des symptômes. De plus, ces traitements possèdent de nombreux effets secondaires périphériques et nécessitent l'administration de doses multiples et quotidiennes aux patients provoquant ainsi leur arrêt. La faible efficacité thérapeutique de ces composés proviendrait du fait qu'ils ciblent qu'un seul mécanisme pathologique. Or, la MA est une maladie complexe mettant en jeu de nombreux mécanismes. C'est pourquoi nous nous sommes particulièrement intéressés au curcumin, un antioxydant connu pour ces effets anti-inflammatoire, anti-amyloïde- β et anti-hyperphosphorylation de la protéine tau. Cependant, son caractère hydrophobe réduit son efficacité thérapeutique.

Au cours des dix dernières années, les applications médicales des nanotechnologies ont abouti au développement de nanoparticules (NPs) encapsulant des composés bioactifs dans le but les transporter à une cible spécifique et d'augmenter leur efficacité. Parmi les différents systèmes de NPs utilisés pour le transport des médicaments à travers la barrière hématoencéphalique, les NPs polymériques et biodégradables s'avèrent être des candidates prometteuses, car elles peuvent prolonger la libération des médicaments et les protéger contre la dégradation enzymatique intestinal. Le polymère le plus couramment utilisé est le poly (acide lactique-co-glycolique (PLGA), composé d'acide lactique (PLA) et d'acide glycolique (PGA). Nous avons récemment développé des nanoparticules encapsulant du curcumin (Nps-Cur) permettant d'augmenter l'absorption du curcumin par les cellules neuronales et de maintenir l'activité du curcumin après 6 mois de stockage. De plus, nous présenterons des données comparatives entre différentes formes de PLGA en fonction du ratio de monomères utilisés. Cette étude souligne l'importance du choix de la matrice polymérique dans la formulation de NPs afin d'affiner les mécanismes de relargage et de dégradation des composés encapsulés pour une application souhaitée.

AO8

Détermination des effets d'une exposition à un mélange de retardateurs de flammes bromés (BFRs) sur le développement des glandes mammaires et des jonctions lacunaires chez le rat

Elham Dianati¹, Emily Tung², Pavine Lefevre³, Marc Rigden², Bernard Robaire³, Barbara Hales³, Mike Wade² et Isabelle Plante¹

¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Canada, ² Health Canada, Ottawa, Canada,

³ McGill University, Montreal, Canada

Les jonctions lacunaires, des canaux transmembranaires composés d'une famille de protéines appelées connexins (Cxs), permettent une communication directe entre deux cellules adjacentes. Une baisse des Cxs a été associée à des problèmes développementaux et au cancer du sein. Quatre Cxs ont été identifiées dans les glandes mammaires, les Cx26, Cx30, Cx32 et Cx43, et leur expression varie selon les stades de développement. L'organogenèse des glandes mammaires comporte différents stades de prolifération, de différenciation et d'apoptose régis par de fines variations hormonales. Les BFRs sont des perturbateurs endocriniens aux propriétés oestrogéniques et affectant la thyroïde. Ainsi, l'hypothèse à la base de ce projet de recherche est qu'une exposition aux BFRs perturbe la régulation hormonale des glandes mammaires, résultant en des changements d'expression des Cxs et en des anomalies développementales. Des rats femelles ont été exposées à des doses environnementales de BFRs (0; 0,06; 250; et 750 mg/kg) via la diète 2 semaines avant l'accouplement, durant la grossesse et durant la lactation. Les glandes mammaires des mères ont été prélevées au sevrage. De plus, les glandes mammaires des femelles nées de ces mères (exposition périnatale) ont été échantillonnées aux jours 21, 46 et 208 après la naissance (PND21, PND26, PND208). Aucune différence significative n'a été démontrée entre les mères et les groupes PND21 et PND46 concernant le poids des glandes mammaires et l'élongation des canaux lactifères. Par contre, nos résultats préliminaires suggèrent qu'une exposition aux BRFs augmente l'expression de la Cx43 chez les mères, sans affecter l'expression de la Cx32. Les prochaines expériences viseront à évaluer d'autres marqueurs développementaux. L'ensemble de nos résultats permettra de déterminer si une exposition environnementale aux BRFs affecte le développement des glandes mammaires et le cancer du sein. Financé par le CRSNG, la FCSQ et la SRC.

AO9

Effets de pesticides sur la voie de signalisation dépendante des androgènes dans les cellules cancéreuses de la prostate et un modèle stéroïdogénique de cellules cortico-surrénales cancéreuses humaines

Christina N.Robitaille et Thomas Sanderson

INRS-Institut Armand-Frappier

L'exposition aux perturbateurs endocriniens, incluant les pesticides, est parfois impliquée dans l'augmentation des risques de développer certains cancers, tel que le cancer de la prostate. Ce dernier, qui est initialement hormono-dépendant, est sous le contrôle du récepteur androgène (RA). Le RA augmente la transcription de certaines protéines impliquées dans la prolifération cellulaire, tel que l'antigène spécifique à la prostate (PSA). Le cytochrome p450₁₇ (CYP17) est un enzyme clé dans la stéroïdogénèse et son activité est associée à une augmentation du risque de cancer de la prostate. Nous avons déterminé les effets de divers pesticides suspectés de moduler la fonction hormonale dans la lignée cellulaire cancéreuse de la prostate humaine androgène-dépendante (LNCaP), ainsi que dans un modèle stéroïdogénique de cellules cortico-surrénales cancéreuses (H295R). Il a été déterminé que les pesticides benomyl et vinclozoline diminuent l'effet de la stimulation par la dihydrotestostérone (DHT) sur l'accumulation nucléaire du RA dans les LNCaP. La vinclozoline diminue aussi l'expression de la forme active du RA phosphorylé en position sérine 81, qui est normalement augmentée par la DHT. De plus, la vinclozoline augmente la dégradation du RA, en augmentant à la fois l'ubiquitination des protéines totales et l'activité du protéasome. Nous avons aussi déterminé l'expression du RA dans les H295R, mais les taux n'étaient pas influencés par la DHT et étaient augmentés par l'atrazine. Les pesticides benomyl et vinclozoline réduisent aussi la sécrétion de PSA, stimulé par la DHT. Dans les cellules H295R, le benomyl, la vinclozoline, ainsi que le prochloraz diminuent l'expression génique de l'enzyme CYP17. De plus, le prochloraz diminue l'expression protéique du CYP17 et inhibe la conversion de la pregnenolone en DHEA par cet enzyme. D'autres pesticides de type néonicotinoïde ont récemment été étudiés. Parmi ceux-ci, le thiamethoxam semble augmenter l'expression du RA, la sécrétion du PSA et diminuer l'activité du CYP17. Certains pesticides d'intérêt exercent donc des effets antiandrogéniques combinés au niveau du RA, du PSA et du CYP17.

AO10

Inhibition de la réplication du virus de l'herpès simplex 1 par le facteur cellulaire UBF

Gabriel Ouellet Lavallée¹, Amélie Bourget², Angela Pearson¹

¹*INRS-Institut Armand-Frappier*

²*Institut de Cardiologie de Montréal, Montréal, Québec, Canada*

Durant l'infection par le virus herpès simplex 1 (VHS-1), le noyau de la cellule hôte subit plusieurs changements. Certains laboratoires, dont le nôtre, ont démontré que des protéines nucléolaires étaient relocalisées durant le cycle d'infection lytique du VHS-1. La protéine nucléolaire Upstream Binding Factor (UBF), un facteur d'initiation de la transcription des ARN ribosomiques, est redistribuée aux compartiments de réplication virale tôt dans le cycle d'infection lytique. Considérant un rôle favorable d'UBF pour la réplication des adénovirus, nous avons entrepris de tester l'importance de cette protéine cellulaire pour la réplication du VHS-1. Le rôle d'UBF dans la réplication du VHS-1 a été étudié à l'aide d'une méthode d'interférence à ARN. Des cellules HeLa ont été transfectées avec des ARNi ciblant le cadre de lecture ouvert d'UBF. Cette méthode a permis de diminuer la quantité d'UBF produite, en affectant minimalement la viabilité cellulaire. L'infection de cellules déplétées en UBF a produit un titre viral dix fois plus élevé à 18 h.p.i. que l'infection des cellules témoins transfectées avec des ARNi qui ne ciblent aucun gène. Une quantification relative de l'ADN par qPCR a montré une présence cinq fois plus élevée de génomes viraux à 10 h.p.i. dans les cellules déplétées en UBF par rapport au contrôle et dix fois plus élevée à 15 h.p.i. Un immunobuvardage de type Western ciblant ICP27, une protéine de classe immédiate-précoce et TK, une protéine de classe précoce, a montré que la synthèse de protéines virales est aussi augmentée dans ces conditions. En présence de PAA, un inhibiteur chimique de la réplication de l'ADN viral, la même augmentation de la synthèse protéique virale est observée dans les cellules déplétées en UBF. L'inhibition de la synthèse protéique précède donc celle des génomes viraux. Cela suggère qu'UBF est capable de restreindre la réplication virale tôt dans le cycle de réplication à partir des génomes viraux entrants, probablement au niveau de la transcription. De plus, un virus UV-inactivé n'a pas induit pas de relocalisation d'UBF. Ces résultats suggèrent que la relocalisation d'UBF fait partie d'un mécanisme de défense antivirale cellulaire qui est déclenché par l'expression d'un ou plusieurs gènes viraux.

AO11

Nouvelle voie de régulation du gène pro-métastatique MMP-9 via BMP4.

Nathalie Bibens laulan et Yves St-Pierre

INRS-IAF

Le microenvironnement tumoral joue un rôle clé dans la progression d'un cancer. Celui-ci est constitué de protéines structurales, tel que le collagène ainsi que de divers types cellulaires qui interagissent avec les cellules cancéreuses. Ces interactions ont une influence directe sur la progression du cancer en favorisant la production de certains facteurs tels que les métalloprotéinases de la matrice (MMP), plus particulièrement MMP-9. La sécrétion de MMP-9 par les cellules tumorales ou péri-tumorales permet entre autre la dégradation de la matrice extracellulaire, ce qui favorise la croissance des tumeurs et la dissémination de métastases. C'est pourquoi la surexpression de MMP-9 est souvent associée à un mauvais pronostic dans plusieurs types de cancer. Des résultats antérieurs de notre laboratoire ont démontré que la production locale du facteur de croissance EGF dans le microenvironnement péri-tumoral inhibe la croissance du lymphome T [1]. Cette inhibition corrèle avec une forte répression de la production locale de MMP-9 dans les cellules péri-tumorales. Les mécanismes par lesquels EGF supprime l'expression de MMP-9 demeurent toutefois inconnus. L'objectif de notre projet vise à déterminer quels sont les mécanismes moléculaires responsables de la modulation d'expression MMP-9 via EGF. Nous avons porté notre attention sur BMP4 (bone morphogenetic protein), une cytokine récemment reconnue pour moduler à la baisse MMP-9 dans les cellules de la rétine [2]. Notre hypothèse de travail est que la stimulation EGF permet une induction à la hausse de BMP4 qui à son tour induit une régulation à la baisse de l'expression de MMP-9. Nos résultats ont démontré que BMP4 dans les cellules de fibrosarcomes HT1080 corrèle avec une baisse d'expression de MMP-9 telle que mesuré par RT-PCR, zymographie et immunobuvardage. De plus, nous avons mis en évidence un lien entre l'expression d'EGF et l'induction de BMP4. Ces observations supportent l'idée qu'EGF pourrait activer l'induction de la cytokine BMP4 qui inhiberait alors l'expression de MMP-9 dans les HT1080.

1. Bouchard, F., et al., *EGR-1 activation by EGF inhibits MMP-9 expression and lymphoma growth*. Blood, 2010. 116(5): p. 759-66. 2. Xu, J., et al., *Over-expression of BMP4 inhibits experimental choroidal neovascularization by modulating VEGF and MMP-9*. Angiogenesis, 2012.

AO12

Le recrutement du complexe d'élongation d'autophagie (ATG5-12/16) au niveau du site de la réplication du virus de l'hépatite C est nécessaire pour une réplication efficace

Ahmed M. FAHMY, Christian DUGUAY, Matthieu BLANCHET et Patrick LABONTÉ.

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec

L'autophagie est un processus qui vise à maintenir l'homéostasie cellulaire. De nombreuses études ont démontré que l'activation de l'autophagie lors d'une infection virale peut augmenter ou limiter la propagation du virus. Récemment, il a été signalé que l'infection par le VHC induit l'autophagie et déclenche l'accumulation de vésicules autophagiques tel qu'observé par la distribution cytoplasmique ponctuée typique de LC3-II dans des cellules infectées. Néanmoins, le mécanisme par lequel le VHC induit l'autophagie demeure méconnu. Récemment, nous avons démontré que polymérase virale (NS5B) interagit avec ATG5, un composant majeur de l'initiation de l'autophagie.

Dans cette étude, nous avons évalué l'implication du complexe d'élongation autophagie (ATG5-12/16) dans la réplication du VHC. Nous avons démontré que le complexe d'élongation est recruté au site de réplication virale et agit comme un facteur proviral. En effet, ATG5-12 et ATG16L1 colocalisent avec la réplicase virale dans des hépatocytes infectés. En outre, nous avons montré que l'induction de l'autophagie par la protéine virale non structurale 4B (NS4B) mène à sa colocalisation avec LC3-II dans des cellules surexprimant cette protéine virale (NS4B), mais pas dans des cellules infectées. Étonnement, LC3-II n'est pas recrutée avec le complexe d'élongation au site de réplication virale et aucune colocalisation de LC3-II avec des protéines virales n'a été observée. Enfin, en utilisant les formes dominantes négatives d'ATG5, ATG12 et d'ATG4, nous avons démontré que le conjugué ATG5-12, mais pas la formation de LC3-II, est important pour la réplication virale.

Somme toute, ces résultats indiquent que le VHC utilise le complexe d'élongation d'autophagie pour promouvoir sa propre réplication, mais bloque la formation d'un véritable autophagosome sur le site de réplication virale.

AO13

La dégradation de la Synaptotagmine XI par la Leishmanolysine mène à une sécrétion dérégulée de cytokines

Guillermo ARANGO DUQUE¹, Mitsunori FUKUDA², Salvatore J. TURCO³, et Albert DESCOTEAUX¹

¹INRS-Institut Armand-Frappier et Centre de Recherche sur les Interactions Hôte-Parasite.

²Department of Developmental Biology and Neurosciences, Tohoku University.

³Department of Biochemistry, University of Kentucky.

Les Synaptotagmines (Syts) forment un groupe de protéines membranaires de type I qui régulent l'amarrage et la fusion de vésicules dans des processus tels que l'exocytose et la phagocytose. Nous avons récemment découvert que la Syt XI est associée aux endosomes de recyclage et aux lysosomes et régule négativement la sécrétion du facteur de nécrose tumorale (TNF) et de l'interleukine 6 (IL-6). La Leishmanolysine (GP63) est une protéase à zinc qui permet au parasite *Leishmania* d'altérer plusieurs aspects de la biologie des macrophages. L'action de la GP63 mène à un défaut de transcription, traduction et de présentation antigénique. Dans cette recherche, nous démontrons que la Syt XI est dégradée par la GP63 et exclue de la vacuole parasitophore de *Leishmania* de façon lipophosphoglycan-dépendante. Remarquablement, la Syt XI est clivée directement par la GP63. En effet, la Syt XI recombinante est dégradée par des parasites vivants et par des lysats de parasites. En revanche, la chélation du zinc abolit le clivage de la Syt XI. D'autre part, les macrophages infectés par *Leishmania* relâchent du TNF et de l'IL-6 de manière GP63-dépendante. Pour démontrer que la sécrétion de ces cytokines dépend d'une dégradation de la Syt XI par la GP63, une inhibition de l'expression de la Syt XI par des ARN interférants (siRNA) suivie d'une infection par *Leishmania* a été effectuée. Cette expérience a révélé que les effets des siRNA pour Syt XI et de la dégradation par la GP63 n'affectent pas la sécrétion des cytokines de façon cumulative. En conclusion, nos résultats dévoilent un mécanisme dans lequel *Leishmania* induit une sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par la dégradation de la Syt XI. Ces travaux vont permettre d'améliorer notre compréhension sur la façon dont *Leishmania* module la réponse immunitaire.

A14

Régulation du Gène de la Connexine 26 dans l'Épididyme

C. Adam, D. G. Cyr;

INRS-Institut Armand-Frappier; Université du Québec, Laval, QC, Canada

Les Connexines (Cxs) sont des protéines qui forment des canaux transmembranaires entre deux cellules adjacentes, leur permettant de communiquer par la diffusion directe d'ions et de petites molécules (<1kDa). Notre laboratoire a déjà reporté la présence de Cxs au sein de l'épithélium épididymaire : les transcrits des Cx30.3, 31.1 et 32 sont présents au sein de l'épididyme de rat adulte, alors que Cx26 est exprimée uniquement chez les jeunes animaux, quand l'épithélium est indifférencié. Les niveaux de Cx26 sont indétectables à partir du jour 35, ce qui lui suggère un rôle dans la différenciation de l'épithélium. Il n'y a aucune information sur la régulation de Cx26 dans l'épididyme. L'objectif de cette étude était d'identifier les mécanismes qui régulent l'expression du gène de Cx26 dans l'épididyme, par la caractérisation de son promoteur. Une expérience de RLM-RACE a été réalisée et l'amplification de l'extrémité 5' de l'ADNc indique la présence d'un seul site d'initiation de la transcription (sit). Une analyse de séquence a révélée des sites de liaison pour les facteurs de transcription SP1 et AP2. Pour examiner la régulation du gène de Cx26, un fragment de 1,7kb du promoteur a été amplifié et cloné dans un vecteur contenant un gène reporteur de luciférase. Plusieurs construits ont été générés par délétion et transfectés dans une lignée cellulaire d'épididyme de rat (RCE). Les plus hauts niveaux d'activité luciférase sont obtenus avec deux construits (-402 à +133 et -283 à +133) par rapport au sit). Un de ces construits (-283 à +133) a été analysé par délétions successives afin de cibler la région importante impliquée dans la régulation de Cx26. Une diminution majeure de l'activité luciférase a été observée avec la délétion d'un site AP2. Des diminutions ont été également été obtenues avec la délétion d'un site SP1/AP2 et d'un site SP1. Des expériences de mutations dirigées sur les sites de fixation de SP1 et AP2 confirmer les essais luciférase. Ces résultats suggèrent que la transactivation de Cx26 est régulée par AP2 et SP1. D'autres facteurs comme la méthylation pourraient être impliqués. L'élucidation de ces mécanismes permettra une meilleure compréhension de la régulation de Cx26 mais également des processus impliqués dans la différenciation de l'épithélium de l'épididyme. Supporté par CRSNG.

A15

Effets modulateurs de la curcumine sur les neutrophiles en conditions inflammatoires.

Francis Antoine et Denis Girard

INRS-Institut Armand-Frappier

Chez l'humain, les neutrophiles sont les leucocytes les plus abondants dans la circulation sanguine; ils représentent près de 50% de tous les leucocytes. Classiquement, ces cellules du système immunitaire inné patrouillent la circulation sanguine, phagocytent les micro-organismes étrangers, et s'éliminent par apoptose. Les neutrophiles sont d'importants régulateurs de l'inflammation. La durée de vie de ces cellules est relativement courte (quelques heures en circulation), mais en conditions inflammatoires, l'apoptose des neutrophiles est retardée; ce qui entraîne l'augmentation de la durée de vie, et donc du potentiel cytotoxique de ces cellules. En conditions inflammatoires, les neutrophiles augmentent en nombre dans les tissus, produisent des réactifs oxygénés, et sécrètent des cytokines et des chimiokines. Dans cette étude, nous avons évalué les propriétés de la curcumine sur la physiologie des neutrophiles en conditions inflammatoires. La curcumine est un polyphénol présent dans le rhizome de la plante médicinale *Curcuma longa*. Cette dernière est utilisée depuis des millénaires par les médecines traditionnelles chinoise et indienne. La curcumine est une molécule qui possède de nombreuses activités biologiques, notamment l'induction d'apoptose, l'inhibition de la production de réactifs oxygénés, l'inhibition de la sécrétion de cytokines, et l'inhibition de facteurs de transcription impliqués dans l'expression des gènes en conditions inflammatoires. Beaucoup d'études ont été réalisées pour connaître les mécanismes d'actions de cette molécule naturelle, mais seulement quelques-unes ont été réalisées sur les neutrophiles. Dans notre étude, nous démontrons que la curcumine accélère l'apoptose des neutrophiles, inhibe la production de réactifs oxygénés, module la production de cytokines et inhibe l'activation du facteur de transcription NF- κ B en conditions inflammatoires. En plus de ces effets *in vitro*, la curcumine réduit de façon significative le nombre de leucocytes (principalement des neutrophiles) attirés au site inflammatoire dans le modèle murin de la poche d'air *in vivo*. Son utilisation pour traiter ou prévenir les maladies inflammatoires et auto-immunes présente de nombreux avantages sur les traitements déjà établis.

A16

Déterminer le rôle de deux défensines sur la motilité du sperme humain

Raheleh Aram¹, Peter Chan², et Daniel G. Cyr¹

¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval QC,

² Département d'urologie, Hôpital Royal Victoria, Université McGill, Montréal, QC

La fonction de l'épididyme est la maturation des spermatozoïdes. Une des étapes de cette maturation est la création d'une surface de glycocalyx encapsulant les spermatozoïdes. Un des produits de sécrétion de l'épididyme, la β -défensin126 (DEFB126), est un élément dominant du glycocalyx des spermatozoïdes du macaque. Notre laboratoire a montré que les niveaux d'ARNm de DEFB126 dans l'épididyme de patients présentant une azoospermie non obstructive étaient 2 fois plus faibles par rapport aux patients ayant une fertilité démontrée. SPAG11 (sperme associated antigen 11), est également membre des défensines. SPAG11 est sécrété tout au long de l'épididyme humain et couvre également la surface des spermatozoïdes. L'objectif de cette étude était de déterminer s'il existe une corrélation entre DEFB126 et/ou SPAG11 et la motilité des spermatozoïdes chez l'Homme. Des expériences d'immunofluorescence associées à un test de motilité (swim-up test) ont montrés que la majorité des spermatozoïdes positifs pour DEFB126 étaient motiles. Les données comparant le sperme de patients ayant une motilité normale par rapport au sperme de patients ayant une motilité inférieure indiquent que les niveaux de DEFB126 sont plus faibles dans les spermatozoïdes moins motiles. Contrairement à la DEFB126, nous n'observons pas de relations entre SPAG11 et la motilité des spermatozoïdes. Afin de comprendre le rôle de la DEFB126 dans la motilité des spermatozoïdes, une lignée cellulaire humaine d'épididyme (FHCE1) a été utilisée pour développer un modèle de motilité spermatique in vitro. Dans ce modèle, des spermatozoïdes non-motiles ont été mis en culture avec les FHCE1. Les résultats des tests de motilité indiquent que la motilité des spermatozoïdes peut être induite après 7 heures de co-culture avec les FHCE1. Des expériences d'immunofluorescence et de Western-blot sur les cellules FHCE1 ont montré qu'elles expriment la DEFB126. De plus les spermatozoïdes dont la motilité est induite in vitro démontrent un marquage pour la DEFB126. Ces données suggèrent que DEFB126 est associée à la motilité des spermatozoïdes humains et qu'elle peut être induite in vitro en utilisant la lignée cellulaire humaine d'épididyme. Financé par les IRSC.

A17

L'effet modulateur des nanoparticules sur la dégranulation et la phagocytose du neutrophile

Kim Babin et Denis Girard

Laboratoire de recherche en Inflammation et Physiologie des Granulocytes, INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, Québec, Canada

Les nanoparticules (NPs) sont utilisées dans une vaste gamme d'applications, tels que dans les produits de santé, articles ménagers, produits alimentaires et même en médecine. De par leur omniprésence, les effets des NPs sur la santé humaine doivent être déterminés. Il devient donc important d'identifier le potentiel inflammatoire de différentes NPs et notre projet cible leurs effets sur la physiologie des neutrophiles, cellules clefs de l'inflammation. Des données de notre laboratoire indiquent que les NPs de dioxyde de titane (TiO₂), l'oxyde de cérium (CeO₂) et de zinc (ZnO) réagissent avec les neutrophiles humains en inhibant notamment leur apoptose. Pour cette raison, nous croyons que ces NPs pourraient moduler d'autres réponses biologiques importantes dans la défense de l'organisme comme la dégranulation ainsi que la phagocytose. Dans cette étude, nous démontrons que les NPs de TiO₂ et de CeO₂ induisent la dégranulation des granules spécifiques/gélatinases, confirmée par trois méthodes: i) la cytométrie en flux (expression membranaire de CD35, CD63, CD66b); ii) l'immunobuvardage de type western (MMP9, myeloperoxidase, albumine); et iii) la zymographie (activité gélatinasiq). De plus, ZnO et TiO₂ démontrent une augmentation de l'activité phagocytaire, confirmée à l'aide du compte des globules rouges de mouton opsonisés contenus à l'intérieur du neutrophile par microscopie optique, ainsi que celui des billes de latex par microscopie à fluorescence. En conclusion, nos résultats suggèrent que les trois NPs (CeO₂, ZnO et TiO₂) présentent un potentiel inflammatoire de par leurs effets sur la dégranulation des granules spécifiques/gélatinases et sur la phagocytose augmentée chez le neutrophile qui normalement est associée à une surproduction d'IL-8 qui reste à confirmer. En perspective, des études portant sur la production de cytokines et chimiokines par les neutrophiles sont prévues afin d'établir le potentiel inflammatoire de ces NPs. Mots clef : Nanoparticules, neutrophiles, dégranulation, granules spécifiques/gélatinases, phagocytose.

A18

Les adjuvants Proteosome et Protollin induisent une protection indépendante de l'IL-17A et de l'IL-17F

Benôit Bélanger¹, Martin Plante², David S. Burt² et Claude Daniel¹

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, QC, CA

²GlaxoSmithKline Vaccines, Laval, QC, CA

L'immunisation par les voies respiratoires est une stratégie alternative pour améliorer l'efficacité des vaccins traditionnels. À cet effet, la vaccination par la voie intranasale, avec les adjuvants Proteosome et Protollin, a été utilisée dans plusieurs études animales ainsi que lors d'essais cliniques et elle a démontré qu'elle induisait une immunité systémique et mucosale protectrice. Les adjuvants Proteosome et Protollin sont formés à partir d'extraits protéiques de la membrane externe (OMP) de *Neisseria meningitidis*. Le but de cette étude est de caractériser la réponse immunitaire adaptative induite par les adjuvants Proteosome associés avec l'hémagglutinine (HA) du virus de l'influenza A/H1N1/New Caledonia/20/99 et par Protollin coadministrés avec HA en utilisant un modèle murin d'immunisation intranasale. Nous avons démontré que les souris BALB/c immunisées avec les adjuvants Proteosome et Protollin développent principalement une réponse cellulaire de type Th17 dans les poumons. De plus, les souris immunisées avec Protollin ont été protégées suite à une infection expérimentale avec le virus de l'influenza A/New Cal/20/99 adapté à la souris. Étonnamment, les souris déficientes en IL-17A (IL-17A^{-/-}) immunisées avec Protollin et Proteosome étaient protégées. Cette protection accrue chez les souris IL-17A^{-/-} corrèle avec une réplication plus faible du virus et une expression génique plus élevée d'IL-17F en comparaison aux souris BALB/c, et ce principalement chez les souris immunisées avec Proteosome. Tout comme chez les souris IL-17A^{-/-}, les souris déficientes en IL-17A/F^{-/-} immunisées avec Proteosome et Protollin ont aussi été protégées. En conclusion, les adjuvants Proteosome et Protollin induisent dans notre modèle expérimental des réponses adaptatives diversifiées parmi lesquels l'axe IL-17A/IL-23 constitue une composante majeure. Cependant, il semble que les cytokines IL-17A et IL-17F ne soient pas essentielles à la protection induite par les adjuvants Proteosome et Protollin. Ces cytokines pourraient toutefois avoir un rôle important dans la pathogenèse virale.

A19

Suivi de l'origine de la contamination fécale dans la grande région de Montréal

Marc-André Blais, Karla Vazquez, Guy Deschamps, Sarah Dorner, Pierre Payment, Richard Villemur
INRS-Institut Armand-Frappier

Comme pour plusieurs municipalités au Canada, l'infrastructure hydrique dans la Région métropolitaine de Montréal est vieillissante et dégradée. Les égouts sanitaires, qui sont normalement traités par des usines de traitement des eaux usées, peuvent s'écouler dans les égouts pluviaux se déversant directement dans les rivières avoisinantes et ainsi mener à la contamination des sources d'eau potable par des microorganismes pathogènes. Les animaux urbains tels que les rats laveur qui trouvent refuge dans les égouts pluviaux peuvent également contribuer au problème de contamination fécale. Ce projet de recherche, effectué en partenariat avec l'école polytechnique de Montréal, est un suivi de la contamination fécale dans la Région métropolitaine de Montréal ayant pour but de guider les municipalités dans la réparation de leurs infrastructures hydriques. Plusieurs ruisseaux et bassins versants urbains ont été échantillonnés pendant l'été 2012. Les échantillons d'eau ont été filtrés et l'ADN a été extrait des filtres. Des marqueurs mitochondriaux et bactériens spécifiques à l'humain ont été amplifiés par la réaction en chaîne par polymérase (PCR) pour permettre la détection des échantillons positifs. Les marqueurs ont ensuite été quantifiés par PCR en temps réel pour les échantillons positifs. Des analyses de marqueurs chimiques (ex. : caféine) ont aussi été effectuées par le consortium de recherche. Les résultats des analyses par PCR ont démontré que les marqueurs spécifiques à l'humain sont détectés dans la plupart des sites échantillonnés, ce qui indique une contamination fécale d'origine humaine qui pourrait être expliquée par des égouts sanitaires endommagés. La quantification des marqueurs a démontré des niveaux variables de contamination fécale selon le site échantillonné, ce qui pourrait permettre aux municipalités de prioriser la réparation des égouts sanitaires les plus endommagés. Une étude de corrélation entre les marqueurs microbiologiques et les marqueurs chimiques va mener au développement d'un indice de contamination sanitaire. De nouveaux marqueurs de contamination fécale ciblant l'ADN mitochondrial de l'humain, de chien et de raton laveur ont aussi été développés et mis à l'essai au cours du projet.

A20

Identification d'inhibiteurs du NTCP capables de bloquer l'infection d'hépatocytes par les virus des Hépatites B et Delta

Mathieu Blanchet¹, Camille Sureau², et Patrick Labonté¹

¹ INRS-Institut Armand Frappier

² Institut National de la Transfusion Sanguine-Paris-France

Les infections par les virus des hépatites B (VHB) et Delta (VHD) peuvent devenir persistantes et conduire à l'accumulation de lipide (stéatose), à la cirrhose, et au cancer du foie. Selon l'OMS, dans le monde, 350 millions d'individus sont porteurs du VHB et parmi eux, 17 millions sont coinfectés par le VHD. Le VHD est un virus defectif dit « satellite du VHB ». En effet, le VHD emprunte l'enveloppe du VHB pour accomplir son cycle infectieux. VHB et VHD présentent une enveloppe externe identique dans laquelle sont ancrées les protéines d'enveloppe du VHB, indispensables à l'entrée virale. Les déterminants d'infectiosité sur les protéines d'enveloppe ont été largement étudiés. Cependant le récepteur du virus à la surface des cellules n'a été identifié que très récemment. Il s'agit du Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide (NTCP). Notre objectif est de tester des composés approuvés par la « Food and Drug Administration » (FDA) et identifiés comme inhibiteurs de la fonction métabolique du NTCP, pour leurs aptitudes à bloquer l'infection par le VHD et le VHB. Pour ce faire, nous avons cloné puis transfecté le gène NTCP dans la lignée Huh-7 (cellules d'origine hépatique initialement non sensibles à l'infection par les virus VHB et VHD). La lignée stable obtenue a été notre point de départ pour l'étude de l'effet de différents composés sur les étapes précoces des cycles de répliquions viraux. Nos résultats actuels suggèrent que l'Ézetimibe, l'Irbesartan et le Ritonavir ont des propriétés antivirales très prometteuses.

A21

De l'arôme au bioréacteur: synthèse d'esters aromatiques par des cellules entières de *E. coli*

Guillaume Brault, François Shareck, François Lépine & Nicolas Doucet

INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, 531 Boulevard des Prairies, Laval, Québec, H7V 1B7, CANADA

Les arômes et fragrances sont des molécules couramment employées dans l'industrie agro-alimentaire, qui recherche constamment de nouveaux procédés visant à les produire de manière naturelle et respectueuse de l'environnement. La chimie verte basée sur les principes du développement durable, permet de synthétiser ces molécules à l'aide de biocatalyseurs enzymatiques. La métagénomique est une approche puissante permettant de découvrir de nouvelles enzymes lipolytiques capables d'effectuer la production biotechnologique d'arômes et de fragrances. Cependant, la vaste majorité des protéines recombinantes produites ne peuvent être employées industriellement en raison des coûts de production des biocatalyseurs. L'une des solutions envisagées est l'immobilisation des enzymes recombinantes à l'intérieur de cellules entières (WCC, pour Whole-Cell Catalyst). Dans le cadre de nos travaux de recherche, un tel biocatalyseur a été produit chez *E. coli* afin de surexprimer une nouvelle lipase intracellulaire (LipIAF5-2), que nous avons isolée à partir d'un consortium métagénomique enrichi. En utilisant le biocatalyseur WCC-LipIAF5-2, divers esters à chaînes courtes aux propriétés odorantes ont pu être synthétisés efficacement. Une simple étape de perméabilisation des cellules a permis d'augmenter substantiellement l'activité de synthèse du biocatalyseur tout en préservant son intégrité. Le WCC-LipIAF5-2 peut efficacement transestérifier divers triglycérides à chaînes courtes. Dans les conditions optimales, la synthèse d'esters d'acétate a atteint un rendement de $97.2 \pm 3.5\%$ en 24h. Le WCC-LipIAF5-2 a aussi démontré une excellente tolérance à de fortes concentrations d'alcools (26% v/v; 4 mol/L) et d'acides gras libres (1 mol/L), deux composés reconnus pour leur pouvoir inhibiteur des lipases. Un mini-réacteur à lit fluidisé a été employé afin de synthétiser l'arôme de banane (acétate d'isoamyle), tout en réutilisant avec succès le WCC-LipIAF5-2 sur 5 cycles. Ces données semblent indiquer que l'expression intracellulaire de lipases chez *E. coli* peut servir de biocatalyseur industriel.

A22

Une connaissance plus approfondie sur les protéines de l'hôte impliquées dans le trafic et la biogenèse des usines virales du TuMV : les protéines SNARE

Daniel Garcia Cabanillas, Camilo Patarroyo, Jun Jiang, Juan Wan, Huanquan Zheng, Jean-François Laliberté

Institut National de la Recherche Scientifique (INRS), Institut Armand-Frappier, 531 bd des Prairies, Laval, QC, Canada H7V 1B7;

Department of Biology, Mc Gill University, Montreal, QC, Canada

Le virus de la mosaïque du navet (turnip mosaic virus, TuMV) est un virus phytopathogène à ARN positif simple brin. Lors de l'infection d'une cellule, le TuMV induit la formation de vésicules via la protéine virale transmembranaire 6K2. Ces vésicules constituent de véritables usines virales au sein de la cellule végétale infectée. Ces usines virales permettent au TuMV de se multiplier en étant protégé par une membrane. Elles prennent naissance au niveau du réticulum endoplasmique (RE) et exploitent le système sécrétoire de la cellule végétale. Cependant, bien que le facteur viral responsable (6K2) de la formation des usines virales soit identifié, très peu d'éléments sont connus sur les facteurs de l'hôte intervenant dans leur biogenèse. Nous ciblons nos travaux de recherche sur l'identification de protéines de l'hôte impliquées dans le trafic de ces usines virales (formation, ancrage dans des compartiments de l'hôte). Nous nous intéressons tout particulièrement à certaines protéines SNARE ou SNARE like, afin de mieux comprendre leur rôle ainsi que celui de la protéine 6K2 dans l'infection par le TuMV au niveau subcellulaire. Des expériences permettant la mise en évidence d'interaction protéine-protéine ont été menées en exploitant le système double hybride chez la levure, et leurs validation in planta ont été effectuées en utilisant des expériences de BIFC et Co-IP. Ces expériences nous ont permis de mettre en évidence une interaction entre les protéines VAP27 et 6K2 et entre VAP22 et 6K2. Tout ces résultats fournissent d'une part des éléments en faveur d'un rôle très étroit entre les protéines SNARE ou SNARE like et la protéine 6K2 lors de l'infection virale d'une plante par le TuMV et soulève d'autre part de nombreuses expectatives sur l'intervention de nouvelles SNARE dans ces mécanismes d'infection encore mal compris.

A23

Développement de nouveaux agents thérapeutiques multifâches contre le cancer du sein

Annie Castonguay^{a,b,c}, Cédric Doucet^b, Michal Juhas^b, Mary Bateman^a, Eliza Hutter^b, Chao-Jun Li^{a*}, Audrey Moores^{a*} et Dusica Maysinger^{a*}

^a *Department of Chemistry*

^b *Department of Pharmacology and Therapeutics, McGill University, Montréal, Qc, Canada*

^c *Institut National de la Recherche Scientifique, Laval, Qc, Canada*

Cette affiche présente la préparation des premiers complexes ruthénium-letrozole et l'étude de leur activité in vitro contre certaines cellules cancéreuses. Plusieurs composés de ruthénium (Ru) sont connus pour leur potentiel anticancéreux tandis que le letrozole (Let) est un médicament couramment administré aux femmes ménopausées souffrant d'un cancer hormonal (ER+), après avoir subi une chirurgie (ablation de tumeur), de façon à prévenir la prolifération des cellules cancéreuses. Ce dernier agit en bloquant l'action de l'aromatase, enzyme responsable de la conversion des androgènes en estrogènes. Les résultats qui sont présentés démontrent une activité in vitro significative pour le complexe Ru(Let)PPH3 contre les cellules humaines MCF-7 (cancer du sein), mais une activité considérablement plus basse contre les cellules humaines glioblastoma U251N (cancer du cerveau). De plus, l'activité du composé Ru(Let)PPH3 est plus prononcée que celle du complexe RuPPH3, un analogue de la drogue RAPTA-C. Finalement, dans la dernière partie de la présentation, certains résultats préliminaires concernant le développement d'un nouveau senseur pour mesurer l'activité de l'aromatase sont présentés. Ce nouvel outil pourra favoriser le développement de nouveaux médicaments (inhibiteurs), mais aussi l'identification de perturbateurs endocriniens de notre environnement.

A24

Effet des mutations associées à la résistance à la fosfomycine et la virulence des *Escherichia coli* Uropathogènes

Kathleen Charles Sébastien Houle et Charles Dozois

INRS-IAF

E. coli uropathogène (UPEC) cause plus de 80% des infections du tractus urinaire communautaires (UTIs). Des millions de dollars sont dépensés chaque année dans les soins et consultations médicales pour les UTIs. L'augmentation des résistances aux antibiotiques causent des difficultés de traitement. Il s'agit donc d'un problème de santé et socio-économique majeur. Les UPEC présentent un taux élevé de résistance *in vitro* à la fosfomycine, un antibiotique très utilisé en Europe. Cependant seulement 2% des souches cliniques portent ces résistances. On s'intéresse donc aux causes possibles de cette dualité entre *in vivo* et *in vitro*. Nous voulons permettre une meilleure compréhension de ce phénomène. Les mutations de résistance concernent les gènes des transporteurs de sucres phosphates GlpT et UhpT - transportant la fosfomycine dans la cellule - les gènes *ptsI* de la phosphotransférase et *cyaA* de l'adénylate cyclase, intervenant dans la régulation et la synthèse de l'AMPc, un activateur de ces transporteurs. Nous avons utilisé les souches uropathogènes CFT073, 536, ECOR72 et la souche de laboratoire non-pathogène K-12, pour générer des mutants dirigés dans ces gènes cibles. Nous avons donc établi un profil phénotypique correspondant à chacune de ces mutations, en testant la croissance des mutants dirigés sur différents milieux minimaux et en déterminant leur concentration minimale inhibitrice (CMI). Nous avons déterminé la fréquence de génération spontanée de résistance à la fosfomycine chez les souches sauvages, sur différents milieux de culture riches et en urine humaine. Par la suite nous avons isolés plusieurs mutants spontanés et selon leur profil phénotypique, par comparaison avec ceux des mutants dirigés, nous avons pu sélectionner les gènes susceptibles d'avoir subi une mutation et les faire séquencer. Nous avons observé une diminution de la CMI de fosfomycine et une diminution de la fréquence de mutation spontanée en présence d'urine et fosfomycine chez les souches testées. Nous avons pu démontrer l'impacte négatif du milieu sur la génération spontanée de mutants résistants, le type de mutation et le niveau de sensibilité en présence de fosfomycine.

A25

Effets de la fluoxétine et de son métabolite, la norfluoxétine, sur la syncytialisation des cellules de choriocarcinome placentaire humaine BeWo.

Hélène Clabault, Thomas Sanderson et Cathy Vaillancourt.

INRS-Centre Institut Armand-Frappier et Centre de recherche BioMed, Laval, Qc.

Introduction : De 15 % à 20 % des femmes seront atteintes de dépression durant leur grossesse et en moyenne 6 % seront traitées avec des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) dont la fluoxétine. Les études de l'effet des ISRS sur la grossesse et le développement placentaire et fœtal demeurent controversées. Le bien-être de la grossesse et le développement fœtal sont tributaires de la qualité du développement du trophoblaste placentaire. Le trophoblaste villositaire, lieu des échanges d'oxygène et de nutriments entre la mère et le fœtus ainsi que de la production des hormones de la grossesse. Les cytotrophoblastes villositaires (mononucléés), dans la villosité flottante, fusionnent et se différencient en syncytiotrophoblaste multinucléé (processus appelé syncytialisation). Le but de cette étude est de déterminer les effets de la fluoxétine et de son métabolite sur la syncytialisation du trophoblaste villositaire. Matériels et méthodes : Les cellules BeWo, un modèle de cytotrophoblaste villositaire, ont été stimulées ou non avec de la forskoline (pour induire la syncytialisation) et exposées à des concentrations croissantes de fluoxétine ou de norfluoxétine (0 à 10 μ M). La différenciation morphologique (fusion) a été étudiée par immunofluorescence en marquant les protéines membranaires E-cadhérine et les noyaux avec du DAPI. La fusion a été quantifiée en comptant le nombre de cellule comportant 3 noyaux ou plus sans délimitation par de la E-cadhérine. La différenciation fonctionnelle a été déterminée par la mesure de la sécrétion de la sous-unité bêta de l'hormone gonadotrophine chorionique (β -hCG) par ELISA. Résultats : Aucun effet de la fluoxétine ni de son métabolite, la norfluoxétine, sur les différenciations morphologique et biochimique des cellules BeWo n'a été observé. Conclusion : Cette étude montre que la fluoxétine et son métabolite n'ont pas d'effet sur la syncytialisation (fusion et différenciation fonctionnelle) basale et stimulée par la forskoline dans les cellules BeWo. Des expériences supplémentaires sont en cours pour confirmer ces résultats dans les primocultures de trophoblastes villositaires de placentas humains de grossesse normale à terme.

A26

Déplacement de *Pseudomonas aeruginosa* sur les hyphes de mycètes

Laure Cockenpot et Éric Déziel

INRS - Institut Armand-Frappier

Le swarming est un type de motilité que plusieurs genres bactériens adoptent (*Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, etc.). Cette motilité se distingue de la nage (swimming) par le fait que le mouvement se fait de façon concertée et coordonnée au sein de la colonie sur un milieu semi-solide (0.5%-0.7% d'agar). Au moins deux conditions doivent être réunies pour réaliser ce type de mouvement: les bactéries ont besoin d'un ou des flagelles fonctionnels et produire un surfactant pour diminuer la tension de surface. Par exemple chez *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie à Gram négatif possédant un normalement un seul flagelle polaire, un deuxième flagelle est présent et la production de rhamnolipides joue le rôle de surfactant pour favoriser le swarming.

Ce phénomène n'a, pour l'instant, était observé qu'en conditions de laboratoire, cependant cette motilité devrait avoir une utilité au niveau écologique. Dans le domaine de la biorestauration des sols contaminés, plusieurs équipes de chercheurs ont déjà constaté qu'il n'y a pas de dispersion bactérienne en absence de mycète. Pour vérifier l'hypothèse que le swarming soit impliqué dans le déplacement bactérien sur les hyphes de mycètes, des mutants de *P. aeruginosa* déficients dans ce type de motilité ont été utilisés, entre autre un mutant n'ayant pas de flagelle et un mutant incapable de produire des rhamnolipides. De plus, des mycètes de différentes familles ont été testés pour s'assurer que les bactéries avaient la capacité de se déplacer sur ces derniers.

Nos résultats préliminaires permettent de voir que les mutants déficients dans le swarming arrivent à se déplacer sur les hyphes, toutefois ce déplacement n'a pas encore été quantifié en comparaison à la souche sauvage. Par contre, le déplacement ne se produit que sur des mycètes ayant des hyphes hydrophiles (*Pythium*, *Fusarium*). Puisque le déplacement ne semble pas nécessiter les fonctions habituelles de la motilité, ce dernier pourrait être le reflet d'autre type de déplacement vu chez les bactéries comme le twitching, phénomène connu chez *P.aeruginosa* ou le gliding, motilité encore jamais rencontré chez cette dernière.

A27

Détermination des mécanismes moléculaires sous-jacents à l'utilisation des inhibiteurs de déacétylase d'histone dans le traitement de la leucémie pédiatrique

Kristelle Desfossés-Baron, Hugo Wurtele

Centre de recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont

La leucémie est la 2^{ème} cause de mortalité infantile au Canada. De nombreux traitements existent pour tenter d'endommager les cellules cancéreuses et ainsi endiguer, voire vaincre la maladie. Toutefois, les agents chimiothérapeutiques occasionnent des dommages à toutes cellules proliférant rapidement, ce qui cause de graves effets secondaires chez les enfants et adolescent en pleine croissance. Des études suggèrent que les inhibiteurs de déacétylase d'histone pourraient potentialiser l'effet des agents de chimiothérapie contre les cellules cancéreuses en influençant les processus de réparation de l'ADN. Notre but est donc de déterminer les effets des inhibiteurs de déacétylase d'histones sur de tels processus. Nous tentons également d'évaluer l'impact des inhibiteurs sur la stabilité et l'hyperacétylation des protéines en lien avec l'augmentation de la sensibilité aux agents génotoxiques. Nos données préliminaires montrent que les inhibiteurs ont un impact considérable sur la progression du cycle cellulaire et qu'ils tendent à agir au niveau de la réplication de l'ADN. Ces résultats nous permettront d'orienter nos recherches afin de déterminer quelles protéines sont affectées par les inhibiteurs et pourraient potentiellement agir en tant que cibles thérapeutiques.

A28

Caractérisation de la diversité bactérienne associée au dendroctone du mélèze, *Dendroctonus simplex* LeConte (Coleoptera : Scolytinae), par séquençage à haut débit (bTEFAP)

Audrey-Anne Durand, Eric Déziel et Claude Guertin

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval (Québec), Canada

Au Canada et dans le nord des États-Unis, le dendroctone du mélèze, *Dendroctonus simplex* LeConte, est un insecte ravageur causant d'importants dommages aux peuplements de mélèzes. Cet insecte possède une stratégie d'attaque dite secondaire, puisqu'il ne s'attaque normalement qu'aux arbres récemment morts ou encore affaiblis. Cependant, lorsque les populations deviennent épidémiques, celui-ci peut également s'attaquer aux arbres sains, causant d'importants dommages aux forêts naturelles et aux plantations de mélèzes. Plusieurs espèces d'insectes appartenant au genre *Dendroctonus* sont reconnues comme vecteur d'une flore bactérienne et fongique. Ces microorganismes associés aux insectes forment un complexe symbiotique qui facilite leur établissement dans l'environnement subcortical de leur hôte. Ce complexe serait également impliqué dans divers processus physiologiques chez les insectes, notamment au niveau de la nutrition ou encore de la protection contre certains microorganismes antagonistes. Dans le cas du dendroctone du mélèze, aucun complexe symbiotique n'a été identifié à ce jour. Afin d'identifier de nouvelles avenues de lutte biologique des populations de *D. simplex*, la caractérisation de la diversité microbienne associée à ce ravageur forestier a été entreprise. Une approche de séquençage à haut débit a été utilisée, selon la méthode «bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing» (bTEFAP), en utilisant le gène codant pour l'ARNr 16S, afin d'identifier les bactéries associées au dendroctone du mélèze. Dans le but de comparer la diversité entre les communautés bactériennes, l'extérieur et l'intérieur du corps de l'insecte ainsi que les galeries de ponte ont été échantillonnés. Cette étude est la première à rapporter une association entre *D. simplex* et une population bactérienne. Nos résultats révèlent une forte dissimilarité dans la composition spécifique des différentes communautés. Une analyse Fast UniFrac a été réalisée afin de confirmer la différence phylogénétique entre les populations bactériennes. Nos résultats démontrent que l'association entre *D. simplex* et ces populations bactériennes pourrait jouer un rôle dans un éventuel complexe symbiotique.

A29

Potentiel apoptotique et nécrotique induit par des dendrimères PAMAN de génération 0,1,2 et 3 sur le neutrophile humain (*in vitro*) et effets *in vivo* dans le modèle de la poche d'air murine

Isabelle Durocher, Claudie Noel, Denis Girard

Laboratoire de recherche en inflammation et physiologie des granulocytes; INRS- IAF, Université du Québec, Laval, Canada

Les dendrimères sont des nanoparticules aux formes uniques synthétisées en laboratoires pour diverses applications biomédicales. Plus de 100 différents types de dendrimères ont été conçus, chacun ayant des propriétés différentes selon l'interaction des constituants de bases qui le forme, i.e. selon le cœur central, les embranchements et les molécules terminales. Le dendrimère polyamidoamine (PAMAM) est parmi les plus utilisés, et malgré ses multiples fonctions, peu d'étude ont été consacrées sur les effets toxicologiques de ces molécules. Le neutrophile est une cellule jouant un rôle essentiel de première ligne de défense de notre système immunitaire qui est grandement régulé par divers mécanismes. L'impact des molécules PAMAM sur les neutrophiles pourrait altérer leurs fonctions et leur durée de vie. La nécrose et l'apoptose des neutrophiles isolés du sang humain provenant de volontaires sains seront étudiés suite à leur exposition à des dendrimères PAMAM de quatre générations (G)(G0,G1,G2 et G3) à divers temps et concentrations. Des expériences *in vivo* seront aussi faites sur des souris CD-1 via le modèle de la poche d'air, également avec les quatre générations de dendrimères PAMAM (G0 à G3) à divers temps et concentrations administrés dans la poche. Un dosage des protéines sera fait à partir des échantillons recueillis. L'analyse des résultats est en cours et jusqu'à présent, des taux de nécrose (exclusion au bleu de trypan) et d'apoptose (cytologie et cytométrie en flux) indiquent une certaine toxicité cellulaire variant de 20 à 60% et une augmentation significative de l'apoptose, selon la génération du dendrimère et la concentration, après une exposition de 24h. *In vivo*, un recrutement élevé de cellules immunitaires est observé dans la poche d'air en réponse aux G1 (500µg/ml) et G2 (100µg/ml) alors que le nombre de neutrophiles est en hausse pour G0 à G3 (100 et 500µg/ml) après 6h. L'utilisation de dendrimères en médecine doit donc se faire prudemment sachant que, dans certains cas, des effets inflammatoires potentiels peuvent être observés.

A30

Effet protecteur des Nanoparticules de curcumin sur un modèle de neurotoxicité induite par l'acroléine

Djiokeng, G; Doggui, S; Belkacemi, A C.Ramassamy
INRS-IAF, Laval; INAF, Université Laval, QC, Canada

De nombreux travaux ont rapporté le potentiel neuroprotecteur du curcumin, une molécule d'intérêt du fait de son activité pléiotropique notamment antioxydante, anti-inflammatoire, anti-amyloïde et anti-hyperphosphorylation de la protéine Tau. Cependant, son efficacité *in vivo* est limitée à cause de sa faible absorption. Depuis plusieurs années, l'utilisation des nanoparticules comme outil thérapeutique pour transporter et libérer des médicaments dans le cerveau constitue une piste de recherche prometteuse.

Nous nous proposons de comparer son efficacité suite à son encapsulation dans des nanoparticules vis-à-vis d'une toxicité induite par l'acroléine, un aldéhyde dérivé des lipides oxydés. La présence de cet aldéhyde très réactif a été détectée très tôt dans de cerveaux des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Notre laboratoire a démontré et caractérisé les mécanismes neurotoxiques de l'acroléine.

Pour atteindre cet objectif, nous avons synthétisé des nanoparticules d'acide poly(lactique co-glycolique) renfermant le curcumin (Nps-Cur) par la technique d'émulsion – diffusion – évaporation de solvant [1]. La caractérisation a été faite par diffusion dynamique de lumière laser (DLS) et par microscopie électronique. Puis l'efficacité des Nps-Cur vis-à-vis de l'acroléine a été analysée par les tests de mortalité (LDH) et de survie (résazurin) cellulaires. La détermination de la production des espèces oxygénées réactives (ROS) par DCF-DA a été effectuée après traitement par l'acroléine.

Nos résultats montrent une distribution moyenne de la taille comprise entre 80 et 120 nm avec une taille moyenne de 100 nm. L'index de polydispersité (IP=0,25) obtenu traduit une homogénéité de notre formulation (IP< 0,3). Par microscopie, nous avons observée une morphologie sphérique et régulière de nos formulations. Les tests de toxicité révèlent une plus grande protection des Nps-Cur comparativement au curcumin libre.

Ceci confirme l'intérêt accordé aux nanoparticules comme stratégie d'administration des médicaments applicable dans la maladie d'Alzheimer.

References:

1. Doggui, Ramassamy et al., J.A.D 2012. 30(2): p. 377-392.
2. Dang, Ramassamy et al. J.A.D. 21, 1197–1216, 2010.

A31

Effet de diindolylmethane (DIM) et ses dérivés ring-DIMs sur l'activité de l'enzyme CYP17 et l'expression des récepteurs aux androgènes

Hossam Draz, Thomas Sanderson
INRS-Institut Armand-Frappier

La voie de signalisation des androgènes et les récepteurs aux androgènes (RA) demeurent les principales cibles des nouvelles thérapies émergentes contre les cancers de la prostate androgènes-indépendants. Les androgènes surrenaliens semblent être suffisants pour activer le RA dans cellules cancéreuses résistantes à la castration. La production d'androgènes surrenaliens peut être bloquée par l'inhibition du stéroïde 17 α -hydroxylase/17,20-lyase (CYP17), une enzyme clé dans la synthèse des androgènes surrenaliens et périphériques. Inhibiteurs de CYP17 qui bloquent toute synthèse d'androgènes sont actuellement en cours d'évaluation clinique. L'objectif de la présente étude est de vérifier si le DIM et les ring-DIMs inhibent l'activité catalytique de CYP17 et/ou l'expression des récepteurs aux androgènes *in vitro*. Les cellules corticosurrénales humaines H295R ont été exposées à des différentes concentrations de DIM ou ring-DIMs pour déterminer les effets sur le CYP17. Pour l'expression RA, cellules cancéreuses de la prostate humaine LNCaP ont été utilisées. Nos résultats montrent que les 4,4 dibromoDIM et 7,7-dichloroDIM inhibent l'activité de CYP17 et diminuent l'expression RA. En conclusion, les ringDIMs pourraient être utilisés comme agents antiandrogéniques contre le cancer de la prostate androgène-dépendant.

A32

Étude du rôle d'UL24 du virus de l'herpès simplex 1 dans l'infection de cellules épithéliales polarisées.

S. Dridi, P.-A. Rochette et A. Pearson

INRS-Institut Armand-Frappier, Université INRS, Laval, Québec CANADA

L'infection par le virus herpès simplex 1 (VHS-1) se fait au niveau des muqueuses et est associée à l'apparition de lésions cutanées. Le VHS-1 cible ensuite les neurones sensitifs innervant la région cutanée infectée où une infection latente permanente s'établit. Suite à différents stimuli, le virus peut se réactiver et il est transporté vers le site de la primo-infection où il provoque une réinfection endogène des muqueuses. Nous étudions plus particulièrement le gène viral ul24 du VHS-1 qui est très conservé dans la famille des Herpesviridae. Ce gène viral est très important pour la pathogenèse du virus. Des études au sein de notre laboratoire suggèrent qu'UL24 pourrait avoir un rôle important dans la dissémination du virus entre les cellules épithéliales muco-sales et les neurones des ganglions sensitifs innervant la région infectée. D'autres études suggèrent également qu'UL24 aurait un rôle modulateur du trafic intracellulaire des glycoprotéines virales impliquées dans la fusion membranaire en utilisant le cytosquelette d'actine. UL24 pourrait à ce titre moduler le trafic d'autres glycoprotéines virales comme celles essentielles à la dissémination, notamment gE et gI. Pour étudier le rôle d'UL24 dans les cellules épithéliales polarisées, des cultures de cellules Caco-2 polarisées ont été établies dont la différenciation a été confirmée par des mesures de résistances transépithéliales. En comparant l'infection de ces cultures par le virus de type sauvage (KOS), le virus déficient en UL24 (UL24X), puis le virus restitué (UL24Xrescue), nous pourrions déterminer le rôle d'UL24 dans l'infection par voie apicale ou basolatérale. Pour étudier l'importance d'UL24 dans la dissémination du virus entre les cellules épithéliales et les cellules neuronales, le système de culture compartimenté basé sur la chambre de Campenot sera utilisé. Ce système permet de garder séparés les neurites des corps cellulaires neuronaux. Des cellules épithéliales en co-culture avec les neurites permettront l'étude de la dissémination du VHS-1 entre ces deux types cellulaires suite à leur infection par les virus KOS, UL24X ou UL24Xrescue. Ainsi, nous évaluerons l'implication d'UL24 dans la dissémination du VHS-1 entre ces deux types cellulaires hautement spécialisés.

A33

Exploration du rôle structurel et fonctionnel de la galectine-7 dans le cancer

Philippe Egesborg,¹ Stéphane Beauchamp,¹ Donald Gagné,¹ Andrée-Anne Grosset,^{1,2} Louis A. Gaboury,² Yves St-Pierre¹ et Nicolas Doucet¹

¹ *INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, 531 boul. des Prairies, Laval, Qc, Canada H7V 1B7*

² *Institut de Recherche en Immunologie et Cancérologie, Université de Montréal, Montréal, Qc, Canada H3T 1J4*

Les galectines sont des lectines liant les β -galactosides impliquées dans une grande variété de processus cellulaires incluant notamment l'apoptose et la progression tumorale. La galectine-7 (Gal-7) est exprimée préférentiellement dans les épithéliums stratifiés et s'organise sous la forme d'homodimères. Des études récentes ont mis en lumière les altérations significatives dans le patron d'expression de cette galectine durant la progression du cancer, révélant des rôles pro-survie et pro-apoptotique dépendamment de l'histologie de la tumeur. À ce jour, la fonction biologique précise de Gal-7 ainsi que son mécanisme moléculaire exact dans la cellule demeurent inconnus. Étant donné que la localisation cellulaire fut démontrée comme étant importante pour leur habileté à moduler l'apoptose, les formes mutantes de Gal-7 retenues dans certains compartiments cellulaires furent analysées par spectroscopie RMN et calorimétrie par titrage isotherme. Puisque l'organisation de la structure quaternaire de Gal-7 et son domaine de reconnaissance des sucres pourraient être essentiels à sa localisation cellulaire et ses fonctions biologiques, une stratégie pour la création de mutants demeurant sous forme monomérique et ne liant pas les β -galactosides est présentée. La structure cristalline et des analyses informatiques nous ont en effet permis d'identifier des résidus clés impliqués dans la stabilisation de l'interface de dimérisation et la liaison des sucres. L'interférence dans les rôles de Gal-7 *in vivo* à l'aide de peptides est également envisagée. La compréhension de l'implication de Gal-7 dans le cancer et la formation des métastases pourra permettre à la communauté scientifique d'explorer de nouvelles avenues dans la recherche de traitements contre le cancer.

A34

Localisation des récepteurs de la mélatonine dans le trophoblaste villositéux et extravillositéux de placentas du premier trimestre de la grossesse

Lucas Fagundes¹, Dave Lanoix¹, Mélanie Cocquebert², Thierry Fourmier², Cathy Vaillancourt¹

¹ INRS-Institut Armand-Frappier et Centre de recherche BioMed, Montréal, Canada;

² UMR-S 767, INSERM-Université Paris Descartes, Paris, France.

Le villosité chorial du placenta humain est composé, entre autres, de trophoblaste villositéux (endocrine) et extravillositéux (invasif, qui ancre le placenta à la décidue). Nous avons démontré que le trophoblaste villositéux isolé des placentas à terme produit de novo la mélatonine et exprime ses récepteurs (MT1, MT2 et ROR). Dans le trophoblaste villositéux la mélatonine via une action récepteur-dépendante et indépendante inhibe l'apoptose et le stress oxydatif induit par une hypoxie-réoxygénation dans les primoculture de trophoblaste villositéux de grossesse à terme, suggérant un rôle protecteur pour cet indolamine dans le placenta. Par contre, le rôle et l'expression de la mélatonine et de ses récepteurs de la mélatonine dans le trophoblaste du premier trimestre de la grossesse n'a jamais été étudiée. L'objectif de cette étude est de déterminer l'expression et la localisation intracellulaire des récepteurs MT1, MT2 et ROR; dans le trophoblaste villositéux (vCTB) et extravillositéux (evCTB) isolé de placenta du premier trimestre de la grossesse. L'expression des récepteurs MT1, MT2 et ROR; a été analysée par immunobuvardage et par RT-qPCR dans l'evCTB, le vCTB et le syncytiotrophoblaste (ST) isolés de placenta du premier trimestre de la grossesse. La localisation cellulaire des récepteurs été déterminé par immunocytochimie fluorescente.

Les résultats montrent une expression et une localisation cellulaire différentielle des récepteurs selon le type de trophoblaste. Les récepteurs MT1, MT2 et ROR; sont moins exprimé dans le evCTB et le ST comparé au vCTB. Dans le vCTB et le evCTB, MT1 and MT2 sont situés au niveau de la membrane cytoplasmique et nucléaire. Tandis que le récepteur ROR; est exprimé uniquement dans le noyau. Dans le ST les trois récepteurs sont exprimées uniquement au niveau nucléaire. La variation de l'expression des récepteurs de la mélatonine entre les différents phénotypes de trophoblastes suggère que la mélatonine agit par différentes voies dans ces cellules. Ces résultats suggèrent que la mélatonine joue un rôle protecteur dans le trophoblaste au premier trimestre de la grossesse.

A35

Etude du rôle d'UL24 dans la production de nouveaux génomes viraux lors de la réplication du virus herpès simplex 1.

Boury Faye, Annie Rochette, Anne-Christine Huot et Angela Pearson.

INRS-Institut Armand-Frappier.

Le virus herpès simplex 1 (VHS-1) est un agent pathogène qui infecte l'Homme en ciblant les cellules épithéliales de la peau ou des muqueuses menant à la formation de lésions vésiculaires. Par la suite, il infecte les neurones sensitifs où il établit la latence. Le génome du VHS-1 est constitué d'une molécule d'ADN double brin linéaire de 152 kpb divisée en deux segments : la région unique longue et la région unique courte. L'existence de séquences répétées inversées de part et d'autre de ces segments, permet l'inversion de ces régions uniques par un mécanisme de recombinaison homologue. Ces événements d'inversion conduisent à la formation de 4 isomères présents en quantité équimolaires lors de la réplication du VHS-1. Le gène UL24 est un gène conservé à travers la famille des Herpesviridae codant pour une protéine à cinétique tardive. Notre groupe a montré qu'UL24 favorise la production de monomères d'ADN génomique du VHS-1. D'autre part, la partie N-terminale d'UL24 contient un motif putatif d'endonucléase de type PD-(D/E)XX spécifique des membres de la superfamille des phosphodiesterases. Par ailleurs, la littérature rapporte que cette superfamille renferme des recombinases. Ainsi, une hypothèse est que l'interaction d'UL24 avec l'ADN viral favorise la génération de nouveaux génomes viraux par un processus de recombinaison homologue lors de la réplication du VHS-1. Afin de tester cette hypothèse, des cellules Vero ont été infectées par les souches viraux KOS (souche sauvage VHS-1), UL24X (déficiante en UL24) et UL24XRescue (virus reconstitué). Ce test de recombinaison fait appel à l'usage de l'enzyme SpeI spécifique pour cliver une seule fois chaque unité d'ADN génomique de concatémères viraux. Les différents isomères peuvent être identifiés par la taille des fragments générés. L'analyse des produits de réplication a été faite par électrophorèse en champs pulsé. Les résultats de ces expériences permettront de comprendre davantage le rôle d'UL24 et ses mécanismes de régulation au niveau de la synthèse des isomères génomiques lors de la réplication du virus. Ces données contribueront notamment à l'enrichissement de nos connaissances axées sur la réplication spécifique du VHS-1.

A36

Analyse comparative de la flexibilité des mouvements chez les homologues des RNases humaines

Donald Gagné, Laurie-Anne Charest & Nicolas Doucet.

INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, 531 Boulevard des Prairies, Laval, QC H7V 1B7, CANADA

Il a été démontré chez plusieurs protéines et systèmes enzymatiques que les mouvements atomiques sont partie intégrante de leur fonction biologique. Ces mouvements moléculaires sont impliqués, entre autres, dans la liaison et la discrimination des substrats, le positionnement et/ou relâchement du produit. Pour étudier la conservation évolutive entre la structure, la fonction et la flexibilité moléculaire entre homologues structuraux, nous avons sélectionné plusieurs membres de la famille des ribonucléases A (RNases) et comparé leur comportement dynamique à plusieurs échelles de temps. Cette famille d'enzymes, dont la fonction commune est de dégrader l'ARN simple et/ou double brin, a su conserver sa structure et son activité catalytique tout au long de son évolution. Malgré ces similitudes, l'efficacité catalytique varie considérablement entre les membres, ce qui en fait un excellent modèle pour l'étude de la conservation de l'évolution de la dynamique fonctionnelle. Les mouvements moléculaires qui se produisent à l'échelle de temps de la catalyse ont été corrélés à la fonction, ce qui suggère que l'efficacité catalytique des RNases pourrait dépendre de la flexibilité intrinsèque associée à chaque protéine. Dans cette étude, nous avons utilisé une combinaison de méthodes RMN, soit le CPMG et le titrage, et des expériences biophysiques afin de capturer et comparer la flexibilité conformationnelle entre les membres humains de la famille des RNases. Nous montrons que les mouvements de l'ordre de la milliseconde sont maintenus dans les régions fonctionnelles similaires affichant pourtant des séquences divergentes. Bien que les motions soient conservées, l'échange conformationnel (k_{ex}) varie considérablement, résultat compatible avec des activités catalytiques distinctes. L'étude de la dynamique fonctionnelle ouvre la porte à la création d'inhibiteurs allostériques qui agissent en perturbant l'équilibre dynamique essentiel à la catalyse enzymatique.

A37

Perturber des voies de récupération du fer par les sidérophores de type catécholate pour limiter la virulence des *Escherichia coli* pathogènes aviaires.

Amélie Garénaux, Mélissa Caza, Catherine Chouinard-Pelletier, Sébastien Houle et Charles Dozois.

INRS-IAF, Laval, Qc, Canada

Les *Escherichia coli* pathogènes extra-intestinaux sont capables de causer des infections urinaires, des septicémies et des méningites néo-natales chez l'homme, mais sont également responsables d'infections respiratoires causant de lourdes pertes dans les élevages de volaille. Ces bactéries, pour pouvoir subsister à l'intérieur du corps de leur hôte, doivent être capables de récupérer le fer indispensable à leur survie. Ce fer se trouve séquestré dans des protéines de transport ou de stockage. Pour le récupérer, les pathogènes utilisent des sidérophores, de petites molécules à haute affinité pour le fer capables d'arracher le fer contenu dans les protéines de l'hôte. Chez les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux, on trouve jusqu'à 4 types de sidérophores différents. Une fois liés au fer, les sidérophores sont reconnus par des récepteurs spécifiques et acheminés vers le cytoplasme. Le fer peut ensuite être directement libéré suite à l'action d'une réductase. Dans certains cas, comme pour les catécholates produits par *E. coli* (entérobactine et salmochélines), une étape de dégradation préalable par des estérases est nécessaire. Si empêcher la synthèse de sidérophores diminue la virulence des pathogènes aviaires, aucune étude n'a jusqu'à présent permis d'évaluer l'effet de la perturbation des voies de récupération du fer sur la capacité de ces souches à causer une infection. Différents mutants d'estérases (Fes, IroD et IroE) et un mutant de réductase (YqjH) de catécholates ont été générés. Leurs niveaux de production de sidérophores ainsi que leur virulence in vivo ont été évalués. Il a pu être établi que l'estérase IroD jouait un rôle crucial dans la virulence et que même en présence de la machinerie de synthèse, la présence des estérases est indispensable pour la production de certains sidérophores spécifiques des souches pathogènes.

A38

Certaines protéines de la famille Dok sont recrutées aux phagosomes et clivées par la protéase GP63 lors d'une infection par *Leishmania major*

Carolina P. Gómez, Hector Alvarez de Celis, Albert Descoteaux et Pascale Duplay

Institut National de la Recherche Scientifique-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, QC H7V 1B7 Canada

La famille des protéines adaptatrices Dok comprend 7 membres dont 3, Dok-1, Dok-2 et Dok-3, sont exprimés par les macrophages et agissent comme régulateur négatif des voies de signalisation en réponse à certaines cytokines, facteurs de croissance, et lipopolysaccharides (LPS). Nous avons évalué le rôle de ces trois protéines lors de la phagocytose dépendante de récepteurs de type Fc et suite à l'infection de cellules avec des promastigotes du parasite *Leishmania major*. Ce pathogène cause la leishmaniose cutanée et est reconnu pour sa capacité à modifier les voies de signalisation cellulaires et les fonctions des cellules de l'hôte. En utilisant des macrophages dérivés de la moelle osseuse (BMMs) de souris déficientes en Dok-1 et Dok-2, nous avons démontré que la phagocytose de billes opsonisées avec des IgG, ainsi que l'entrée et la survie du parasite, ne sont pas affectées par l'absence de ces protéines. De plus, l'absence de Dok-1/Dok-2 n'a eu aucun effet sur l'activation des kinases ERK1/2 et PKB (Akt). Nous avons évalué le recrutement de ces protéines au phagosome. Dok-1, Dok-2 et Dok-3 sont recrutés aux phagosomes contenant des billes de latex, et y restent associés lors de la maturation de ces vésicules. Par contre, lors d'une infection avec *L. major*, Dok-1 est absente des phagosomes contenant le parasite. De manière remarquable, lors d'une infection avec des parasites déficients en GP63, une métalloprotéine associée à la pathogénèse du parasite, Dok-1 est recrutée aux phagosomes contenant les parasites. Des analyses biochimiques ont montré que Dok-1, Dok-2 et Dok-3 sont clivées en présence de GP63. Finalement, lors d'une infection de macrophages préalablement activés à l'interferon gamma, avec des promastigotes de *L. major* de type sauvage ou déficient en GP63, la production d'oxide nitrique et de facteur de nécrose tumoral (TNF) est réduite en absence de Dok-1/Dok-2.

Nos résultats suggèrent que les protéines Dok contribuent à la régulation de la réponse des macrophages suite à une infection avec *L. major*.

A39

Les Nanoparticules d'oxyde de Zinc (ZnO) retardent l'apoptose du neutrophile par un mécanisme dépendant d'une synthèse protéique *de novo* mais indépendant d'une production d'espèces réactives de l'oxygène

David Gonçalves et Dr. Denis Girard

INRS-Institut Armand Frappier

De nombreuses études démontrent que certaines nanoparticules (NP) sont capables d'initier et d'amplifier des réponses inflammatoires. De plus, certaines NP peuvent activer les cellules polymorphonucléaires (PMN ou neutrophiles) et possèdent la capacité de moduler leurs fonctions. Considérant le rôle très important que jouent les neutrophiles en inflammation, il est surprenant de constater que l'effet direct des NP sur les PMN est peu documenté.

Nous avons effectué une caractérisation des NP de ZnO par microscopie électronique à transmission et par diffraction dynamique de la lumière (DLS) dans différents tampons physiologiques. La charge électrique de surface (potentiel zeta) et la contamination de la solution de NP de ZnO ont également été évaluées. Nous démontrons ici que les NP de ZnO activent le neutrophile. Ces NP augmentent la taille des PMN, provoquent des changements morphologiques, déclenchent des événements de phosphorylation et augmentent la capacité du neutrophile à se propager. Toutefois, elles n'ont pas généré la production d'espèces réactives oxygénées (ROS). Également, le traitement des neutrophiles avec ces NP diminue le taux d'apoptose spontanée du neutrophile et augmente la synthèse protéique *de novo* par les PMN. L'utilisation d'un inhibiteur de synthèse protéique d'origine bactérienne, le cycloheximide (CHX), a annulé en partie l'effet anti-apoptotique des NP de ZnO. L'étude des protéines impliquées dans ce retard d'apoptose est en cours (gels 2D, spectrométrie de masse). En fonction des résultats obtenus, nous concluons que les NP de ZnO sont des agonistes puissants du neutrophile. Cette étude est également la première qui démontre la capacité d'une NP à augmenter la synthèse polypeptidique d'une cellule.

A40

Rôle de la partie C-terminale de la protéine UL24 du virus de l'herpès simplex 1 dans le trafic intracellulaire

Carmen Gonzalez, Nawel Ben Abdeljelil et Angela Pearson

INRS-Institut Armand-Frappier, Université INRS, Laval, Québec, CANADA.

Le gène viral UL24 du virus de l'herpès simplex 1 (VHS-1) est conservé parmi tous les virus de la famille des Herpesviridae. La protéine UL24 contient une partie N-terminale qui est hautement conservée parmi les orthologues de cette protéine dans divers virus herpès. Plusieurs études ont démontré l'importance d'acides aminés hautement conservés dans la partie N-terminale d'UL24 dans les modifications nucléolaires induites par le VHS-1 et dans la pathogénèse dans un modèle murin d'infection oculaire. Contrairement, la partie C-terminale d'UL24 est pauvrement conservée, et son rôle durant l'infection n'est pas encore déterminé. Des résultats antérieurs ont démontré que lorsqu'exprimée seule, la partie C-terminale d'UL24 se retrouve au Golgi en contexte de transfection transitoire. Notre hypothèse est qu'il y a des résidus dans la partie C-terminale d'UL24 qui sont importants pour les fonctions de la protéine dans le cytoplasme. Nous avons produit une série de vecteurs d'expression mammifère encodant UL24 du VHS-1 avec des délétions dans la partie C-terminale. De manière intéressante, nous avons observé que plusieurs formes délétées d'UL24 se localisent majoritairement dans le noyau dans les cellules COS-7 dans un contexte de transfection transitoire. Ces résultats suggèrent la présence d'un signal d'export nucléaire (NES) localisé entre les acides aminés 253 et 265. La mutagenèse dirigée ciblant des résidus prédits à faire partie d'un NES a significativement augmenté la localisation nucléaire d'UL24 dans les cellules COS-7 transfectées. De plus, nous avons trouvé que le traitement avec la leptomycine B, un inhibiteur de l'export nucléaire dépendant de CRM-1 (exportine -1), a mené à l'accumulation d'UL24 du VHS-1 dans le noyau suggérant que cette protéine peut faire la navette entre le cytoplasme et noyau. Pour déterminer l'importance de cette fonction pendant l'infection, nous avons produit des virus recombinants contenant de mutations ponctuelles dans le génome du VHS-1 en utilisant le système Bacterial Artificial Chromosome (BAC). Cette propriété nouvellement découverte de la protéine UL24 du VHS-1 pourrait jouer un rôle dans la réplication virale pendant les étapes tardives du cycle de réplication virale.

A41

Rôle du HIF-1 α dans les Cellules Dendritiques Lors de la Leishmaniose Viscérale

Akil HAMAMI, Tania CHARPENTIER, Melina SMANS and Simona STÄGER

INRS-Institut Armand-Frappier 531, boulevard des Prairies Laval (Québec) H7V 1B7, Canada

L'hypoxie est une caractéristique commune des tissus endommagés ou inflammés. Cet état est accompagné par la régulation du facteur de transcription Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α). Ce dernier, joue un rôle crucial dans l'immunité innée dirigée contre les pathogènes intracellulaire. Le parasite *Leishmania donovani* qui est l'agent causatif de la leishmaniose viscérale, induit des réponses immunitaires anti-inflammatoires, supprime les cellules T et établit une infection chronique dans la rate. Des travaux récents effectués *in vitro*, montre que *L. donovani* induit l'augmentation de l'expression et la stabilisation du HIF-1 α dans les cellules hôte, ce qui permet son développement. De plus, les cellules dendritiques (DCs) impliquées dans la présentation de l'antigène, deviennent complètement inactivées.

Dans ce travail, on montre le rôle du HIF-1 α dans les cellules dendritiques lors de la leishmaniose viscérale expérimentale dans le modèle murin, puisque le parasite induit la surexpression de ce facteur dans les DCs *in vivo*. Afin de caractériser les réponses des lymphocytes T CD8 $^{+}$ antigène spécifiques, nous avons désigné un système de transfert adoptif dont nous avons utilisé des parasites exprimant OVA, et des cellules T OT.I CD8 TCR, transgéniques. En effet, des souris C57Bl/6 HIF1 α Cre, déficientes du HIF-1 α dans les cellules dendritiques, présentent une amélioration de l'expansion des cellules T ainsi que de leur capacité effectrice. De plus ces souris montrent une diminution importante de la charge parasitaire. Nos résultats confirment que *L. donovani* active la voie du HIF-1 α pour supprimer les réponses T et favoriser l'établissement d'une infection chronique.

A42

Effets de composés pharmaceutiques et des mélanges sur le système immunitaire de phoques commun (*Phoca vitulina*).

C. Kleinert¹, M. Mournier², M. Fortier¹, S. DeGuise³, M. Fournier¹

¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec H7V 1B7, Canada ; ²

¹, 34090 Montpellier, France ; ³ Department of Pathology, University of Connecticut, Storrs, CT 06269, U.S.A.

Mots clés: produits pharmaceutiques, lymphocytes, PBMCs, immunotoxicité

Il est aujourd'hui prouvé que les organismes sauvages subissent des perturbations du système immunitaire. Une réduction de certaines activités fonctionnelles du système immunitaire peut altérer la résistance de l'hôte aux pathogènes présents dans l'environnement. Plusieurs perturbations sont causées par des produits pharmaceutiques présents dans les effluents municipaux rejetés dans l'environnement aquatique. Bien qu'étant moins persistants que les PCBs, la consommation accrue de ces composés et leur décharge constante dans le milieu naturel exigent une évaluation des risques sur les espèces sauvages, soumises à ces rejets. Le but de cette étude est de déterminer l'effet immunotoxique et génotoxique des produits pharmaceutiques sur les cellules immunitaires de phoques communs (*Phoca vitulina*) *in vitro*. Les cellules d'une lignée de lymphome B (11B7501) ont été exposées à certains produits pharmaceutiques. Les composés étudiés sont des analgésiques (ibuprofène, naproxène), des substances psychoactives (carbamazépine, paroxétine), des antibiotiques (érythromycine, sulfaméthoxazole, triméthoprime), le 17 α -éthynylestradiol, le gemfibrozil et de la caféine. Nos résultats ont montré qu'aux concentrations trouvées dans les eaux de surface, les composés n'entraînent pas d'effets significatifs sur la phagocytose ni sur la transformation lymphoblastique avec la Con A. A des concentrations plus élevées, les expériences avec la lignée cellulaire ont révélé des effets à la fois sur la prolifération lymphoblastique, sur le cycle cellulaire et sur l'apoptose, et ce pour plusieurs composés. Aucun changement significatif n'a été observé pour la phagocytose, dans la gamme de concentrations utilisées. Supporté par Chaire de recherche du Canada en immunotoxicologie (MF) et NSERC Strategic Grant. CK a été supportée par une bourse du DAAD et la Fondation universitaire Armand-Frappier.

A43

Profil plasmidique des souches EXPEC avec *ompT* et *hlyF* isolé dans Paraná, Brésil

Kobayashi RKT^{1,2}, Nakazato G², Vespero EC², Cyoia PS², Koga VL², Scandorieiro S², Gonçalves MC², Houle S¹, Dozois CM¹

¹ Institut Armand Frappier, INRS; ² State University of Londrina, Paraná, Brazil

Escherichia coli pathogène extra-intestinal (ExPEC) est une cause importante d'infections du tractus urinaire (ITU) et d'infections systémiques chez l'homme. Cependant, l'émergence de souches résistantes est devenue un enjeu majeur pour les hôpitaux et la communauté. La propagation de la résistance aux bêta-lactamases à spectre élargi (ESBL) est associée à des éléments génétiques mobiles tels que des plasmides, qui peuvent également contenir des facteurs de virulence. Deux phénomènes peuvent expliquer ce profil épidémique: la propagation des plasmides qui portent des gènes de résistance aux antibiotiques chez les souches bactériennes ou la propagation de clones bactériens avec des plasmides qui portent des gènes de résistance. Pour caractériser des *Escherichia coli* isolés chez des patients atteints d'ITUs au Brésil, 121 souches d'*E. coli* isolées à partir de l'urine et de 12 hémocultures de patients externes et hospitalisés ont été étudiées. Sur la base des phénotypes de résistance, 44 souches UPEC étaient productrices d'ESBL et 11 souches UPEC étaient résistantes aux carbapénèmes (KPC). Toutes les souches ont été testées pour la présence des gènes *hlyF* et *ompT*. 9 souches UPEC, 7 souches provenant d'échantillons sanguins et 14 souches UPEC-ESBL étaient positives pour *hlyF* et *ompT*. Aucune souche KPC ne contient ces gènes. Ensuite, 8 souches UPEC, 4 souches isolées de sang et 12 UPEC-ESBL ont été sélectionnées pour l'analyse du profil plasmidique et la localisation du gène *ompT* dans les plasmides avec une sonde spécifique d'ADN marqué à la digoxigénine. Les souches ont de 1 à 5 plasmides de haut poids moléculaire et dans toutes les souches le gène *ompT* est présent dans le plasmide de plus haut poids moléculaire. La prochaine étape est d'étudier la présence de ESBL CTX-M dans 12 échantillons, localiser et identifier les types de CTX-M, pour enquêter sur la possible clonalité des souches sélectionnées puis de comparer leur virulence. Il sera possible de déduire les voies de transmission possibles de ces résistances dans le but d'améliorer les méthodes de prévention des infections. Cette étude fournira des informations importantes sur l'émergence de nouveaux clones ou de clones endémiques.

A44

Signalisation Wnt dans les Cellules souches Hématopoïétiques Fœtales et Adultes

Edward Owusu Kwarteng et Krista M. Heinonen

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec

L'hématopoïèse est un processus continu où les cellules souches hématopoïétiques (CSH) donnent naissance à tous les lignages des cellules sanguines. Lors de l'embryogenèse, les CSH du foie fœtal subissent une expansion importante due aux divisions cellulaires symétriques. Chez l'adulte, les CSH sont inactives et ne se divisent que très rarement par divisions asymétrique afin de conserver leur nombre. Il a été montré que les voies signalétiques Wnt jouent un rôle dans le maintien de la fonction de la cellule CSH adulte. Nous formulons une hypothèse selon laquelle la signalisation de Wnt peut réguler la nature symétrique versus asymétrique des divisions cellulaires des CSH. Nous proposons que les deux principales voies de signalisation Wnt, dites canonique et non-canonique polarité cellulaire plane, pourraient être différemment représentées dans les CSH fœtales et adultes. Nous examinons par qRT-PCR les différences dans l'expression des gènes de signalisation Wnt dans des CSH fœtales et adultes triées par cytométrie en flux, suivi par la quantification de niveaux de protéine pour confirmer les différences d'expression des gènes d'intérêt. L'essai initial de l'expression génique montre 4 gènes de signalisation Wnt qui sont spécifiquement exprimés dans les CSH fœtales, mais pas adultes. Les niveaux de protéine intracellulaires de β -catenin; acteur capital dans la signalisation Wnt canonique, subissent une légère augmentation dans les CSH fœtales. La signalisation Wnt Canonique pourrait être plus active dans les CSH fœtales qu'adultes.

A45

Étude *in vitro* des effets immunotoxiques et génotoxiques de 7 composés pharmaceutiques chez la moule bleue *Mytilus edulis*

Lacaze E.¹, Pédelucq J.^{1,2}, Fortier M.¹, Doche S.¹, Gougéard A.¹, Budzinski H.², Fournier M.¹

¹ INRS, Institut Armand-Frappier, 531 des Prairies Blvd., Laval, H7V 1B7 Qc, Canada

² EPOC LPTC, UMR 5805, Université Bordeaux 1, 351 Cours de la Libération 33405 Talence, France

Depuis une vingtaine d'années, la présence de molécules pharmaceutiques dans les effluents municipaux et le milieu récepteur est avérée, et soulève des interrogations quant à leurs potentiels effets sur les organismes aquatiques. Un nombre croissant d'études s'intéressent à l'évaluation des effets de ces substances actives sur des organismes non cibles du milieu aquatique. Ces études ont notamment contribué à démontrer l'effet des substances oestrogéniques sur la perturbation du système endocrinien chez les poissons. Plus récemment, il a été démontré que certaines molécules pharmaceutiques présentes dans le milieu aquatique pouvaient moduler la réponse immunitaire chez la moule. Dans le cadre de cette étude, nous nous sommes intéressés à deux classes de molécules pharmaceutiques largement retrouvées dans le milieu naturel et continuellement rejetées : des antibiotiques (érythromycine, sulfaméthoxazole et triméthoprime) et des psychotropes, inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (carbamazépine, venlafaxine, paroxétine et fluoxétine). L'effet de ces substances a été testé *in vitro* sur les cellules de l'hémolymph d'un organisme modèle : la moule marine *Mytilus edulis*. De part sa forte capacité de filtration, cet organisme peut accumuler les contaminants et les métaboliser, et est ainsi un bon indicateur de la contamination du milieu. Les hémocytes, cellules en charge de la réponse immunitaire et de la détoxification chez la moule, ont été exposées pendant 21 heures à une gamme croissante de ces 7 médicaments. Suite à cette exposition la viabilité des cellules, l'efficacité de la phagocytose, la production d'espèces réactives de l'oxygène et les dommages à l'ADN ont été évalués afin d'appréhender l'effet immunotoxique et génotoxique de ces molécules pharmaceutiques. L'étude des réponses immunitaire et génotoxique doit permettre d'acquiescer des informations sur le risque écotoxicologique que représentent les rejets de substances pharmaceutiques dans le milieu aquatique.

A46

Étude de l'effet neuroprotecteur du PACAP sur l'excitotoxicité et l'inflammation, deux phénomènes observés au cours de la maladie de Parkinson

Asma LAMINE^{1,3}, Myriam LÉTOURNEAU^{1,3}, David CHATENET^{1,3}, David VAUDRY^{2,3} et Alain FOURNIER^{1,3}

¹ Laboratoire d'études moléculaires et pharmacologiques des peptides (LEMPP), INRS – Institut Armand-Frappier, ² Laboratoire sur la Différenciation et Communication Neuronale et Neuroendocrine, Université de Rouen, France, ³ Laboratoire International Associé Samuel de Champlain (LIA INSERM – INRS-Université de Rouen).

Le Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) est un neuropeptide initialement isolé à partir d'extraits hypothalamiques ovins pour sa capacité à stimuler la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) dans des cellules hypophysaires antérieures. Capable d'interagir avec trois récepteurs distincts, i.e. PAC1, VPAC1 et VPAC2, le PACAP exerce une action pléiotrope sur les systèmes cardiovasculaire, nerveux, respiratoire, digestif, endocrinien, reproducteur et immunitaire. En particulier, de puissants effets neuroprotecteurs ont été observés avec le PACAP dans divers modèles d'atteintes neurologiques in vitro et in vivo, incluant la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. Ainsi, il a été démontré que ce peptide favorise la survie neuronale en inhibant directement l'apoptose via l'activation du récepteur PAC1. Enfin, le PACAP protège les neurones de l'excitotoxicité induite par le glutamate, observée au cours de certaines maladies neurodégénératives. De par ses propriétés neurotrophiques et neuroprotectrices permettant le contrôle de la prolifération, de la différenciation et de la survie cellulaire, le PACAP représente donc un candidat prometteur pour le traitement de diverses atteintes cérébrales caractérisées par une inflammation et une excitotoxicité excessives. L'étude réalisée durant ce travail a démontré dans un premier temps que le PACAP protégeait in vitro et in vivo contre l'effet neurotoxique du MPP⁺ (composé mimant in vitro la maladie de Parkinson) et du MPTP et qu'il possédait in vitro un effet anti-excitotoxique contre le glutamate. Dans un second temps, nous avons montré que le PACAP possède un effet anti-inflammatoire vis-à-vis de l'inflammation induite par le MPTP in vivo et ce, en évaluant par RT-qPCR quelques cytokines inflammatoires.

A47

Stent pour stabiliser la dilatation progressive de l'aorte ascendante : étude hémodynamique

Sylvie Lau¹, L'Hocine Yahia¹, Joaquim Miro², Rosaire Mongrain³

¹École Polytechnique de Montréal, ²Hôpital Sainte-Justine, ³McGill University

La bicuspidie de la valve aortique (BAV) est la malformation cardiaque congénitale la plus répandue avec une prévalence d'environ 1%. Dans 50% des cas de BAV, l'aorte ascendante est également dilatée. L'hypothèse génétique a longtemps été avancée pour expliquer cette aortopathie mais l'argument selon lequel l'hémodynamique joue un rôle crucial dans la dilatation gagne de plus en plus de terrain. Un jet asymétrique et frappant directement la paroi aortique, des écoulements hélicoïdaux, des vitesses et des forces de cisaillements à la paroi localement élevées ont été mis en évidence grâce aux récents progrès en imagerie. La littérature chirurgicale récente démontre que le risque de déchirure de l'aorte ascendante croît avec le diamètre de cette dernière ; ce type d'incident constitue l'une des catastrophes aortiques les plus fréquentes et dangereuses. Ainsi, les consensus des sociétés de chirurgie cardiaque préconisent un suivi régulier et une intervention prophylactique ; le diamètre maximal de l'aorte ascendante sert de seuil d'intervention. Jusqu'à présent, l'opération consiste essentiellement en une lourde chirurgie à cœur ouvert avec un remplacement de la partie dilatée de l'aorte par une prothèse en Dacron. Le but de ce projet est de remplacer cette lourde chirurgie de l'aorte ascendante par une procédure per-cutanée, chose non réalisée à ce jour. L'hypothèse originale de ce projet est que le déploiement d'un stent modulateur de flux permet de contrôler la dilatation aortique dans le cas de la BAV afin de ne pas atteindre les critères chirurgicaux. La banque de données de résonances du thorax de l'Hôpital Sainte-Justine a été analysée pour extraire deux cas pathologiques représentatifs de BAV avec dilatation de l'aorte ascendante présentant des diamètres maximaux de 40 et 45 mm. Le flux à travers ces deux modèles sera comparé à un modèle sain par vélocimétrie par images de particules. Dans un premier temps, une étude des champs des vitesses devrait permettre de retrouver les valeurs de la littérature. Dans un second temps, une étude de l'écoulement avec stent dans l'aorte pathologique serait un premier pas vers une preuve de concept pour ce nouveau traitement.

A48

Le quorum sensing contrôle la biosynthèse des 4-hydroxy-3-méthyl-2-alkylquinolines chez *Burkholderia ambifaria*

Servane Le Guillouzer, Annelise Chapalain, Marie-Christine Groleau, Mariane Seguin, Jean-Philippe Dumais & Eric Déziel

INRS-Institut Armand-Frappier

Le quorum sensing (QS) est un mécanisme de régulation de l'expression génique en fonction de la densité bactérienne. Les bactéries synthétisent et sécrètent des molécules de signalisation qui fournissent une indication sur la densité bactérienne. Ces signaux moléculaires, perceptibles par les bactéries d'une même population, déclenchent des cascades de régulation de manière synchrone dans toute la population permettant la coordination des activités bactériennes. La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est un pathogène opportuniste de l'Homme responsable de nombreuses infections nosocomiales. Sa pathogénicité est attribuée à de multiples facteurs de virulence qui sont principalement sous le contrôle du QS via des molécules de signalisation appartenant, d'une part, à la famille des *N*-acyl-L-homosérine lactones (AHLs) et, d'autre part, à la famille des 4-hydroxy-2-alkylquinolines (HAQs). De nombreux gènes interviennent dans la biosynthèse des HAQs parmi lesquels figurent l'opéron *pqsABCDE*. Des molécules de signalisation putatives analogues aux HAQs, appelées 4-hydroxy-3-méthyl-2-alkylquinolines (HMAQs), ont été détectées chez plusieurs espèces bactériennes appartenant au genre *Burkholderia*. Celles-ci sont produites via un opéron homologue à l'opéron *pqsABCDE* : l'opéron *hmqABCDEFG*. Si les principaux acteurs impliqués dans la modulation de l'expression de l'opéron *pqsABCDE* ont été identifiés, la régulation de l'expression de l'opéron *hmqABCDEFG* suscite de nombreuses interrogations. Nos données préliminaires indiquent que, chez la bactérie pathogène opportuniste *Burkholderia ambifaria* qui constitue une des causes majeures de morbidité et de mortalité chez les individus atteints de la fibrose kystique, l'expression de l'opéron *hmqABCDEFG*, à l'instar de l'opéron *pqsABCDE*, est sous le contrôle du QS via des signaux moléculaires de la famille des AHLs. Par ailleurs, bien que la modulation de l'expression de l'opéron *pqsABCDE* implique des HAQs spécifiques, nos données préliminaires montrent que les HMAQs ne contrôlent pas l'expression de l'opéron *hmqABCDEFG*. En revanche, celles-ci affectent la biosynthèse des AHLs. Nous investiguons les subtilités de ce réseau de régulation complexe.

A49

Le rôle des protéines Dok dans la différenciation des cellules $\gamma\delta$ -NKT

Constance Laroche-Lefebvre et Pascale Duplay

INRS-Institut Armand-Frappier

Les protéines de la famille Dok sont des prototypes de molécules dites adaptatrices. Deux membres de cette famille, Dok-1 et Dok-2, sont exprimés dans les cellules T mais leur fonction dans la régulation des réponses des cellules T est encore très peu connue. Nos travaux récents, qui utilisent des modèles de souris transgéniques surexprimant Dok-1 ont montré que ces protéines sont impliquées dans la maturation des thymocytes et en particulier dans le développement des cellules $\gamma\delta$ -NKT. Les cellules $\gamma\delta$ -NKT, contrairement aux cellules T conventionnelles, produisent rapidement des cytokines, possèdent un répertoire TCR restreint (V γ 1.1/V δ 6.3), et sont localisées principalement dans le foie et la rate. Nous souhaitons déterminer comment les protéines Dok régulent la maturation et les propriétés fonctionnelles des cellules $\gamma\delta$ -NKT au cours de leur différenciation dans le thymus. Pour ce faire nous avons mis au point un système in vitro de co-culture de cellules de foie foetal de souris avec des cellules OP9-DL1. Nous présenterons la cinétique d'apparition et de la maturation des cellules $\gamma\delta$ -NKT dans un tel système ainsi que l'effet d'une stimulation via les récepteurs CD3, CD28 et TCR γ - δ . La prochaine étape du projet sera d'étudier l'influence des protéines Dok dans ce système. Pour ce faire, nous utiliserons des cellules de foie foetaux isolés à partir de souris Dok-1/Dok2-/-.

A50

Étude des protéines Dok dans la réponse immunitaire lors de l'infection par le virus de l'herpès simplex 1 dans un modèle murin

Soumia Lahmidi, Mitra Yousefi, Pascale Duplay et Angela Pearson
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec, Canada

Le virus herpès simplex 1 (VHS-1) touche 80% de la population mondiale. Le contrôle de la réplication du VHS-1 met en jeu de nombreuses cellules immunitaires dont les lymphocytes (Ly) T CD4+ et T CD8+ qui contrôlent l'infection aiguë tandis que le maintien de la latence du virus dans les neurones de ganglions tri-géminaux implique les Ly T CD8+ spécifiques à VHS-1. En contre partie, le VHS-1 utilise différentes stratégies pour échapper au système immunitaire dont l'une est d'inactiver les Ly T. Les protéines Dok-1 et Dok-2 sont des régulateurs négatifs de divers processus biologiques à savoir la prolifération, la différenciation, la migration, et la tumorigenèse des Ly T. L'implication des Dok dans le contrôle d'infection virale n'est pas encore connue. Le but de ce projet est de déterminer l'influence de Dok-1 et Dok-2 dans la réponse T suite à une infection par le VHS-1.

L'hypothèse de ce projet est que les protéines Dok-1 et Dok-2 modulent à la baisse la réponse immunitaire anti-VHS-1 lors de l'infection aiguë.

Nos études préliminaires impliquent l'utilisation de souris déficientes pour le gène Dok-1 (KO) et des souris sauvages (WT). Suite à l'infection oculaire des souris par le VHS-1, nous avons constaté que la réplication virale sur le site oculaire durant l'infection aiguë était similaire dans les souris WT et KO. L'ensemble des souris ont présenté un tableau clinique identique avec une inflammation péri-oculaire évidente à 6 jours post-infection (jpi). Nous avons ensuite analysé la réponse immunitaire spécifique anti-VHS-1 et l'état d'activation des Ly T CD4+ et T CD8+ dans la rate et les ganglions lymphatiques drainants à 8 jpi en cytométrie en flux. Nous n'avons pas observé de différence entre les souris WT et KO : le nombre de Ly T CD8+ spécifiques à VHS-1, le nombre de Ly T CD4+ activés et Ly T CD8+ activés semblait similaire. Des expériences avec un plus grand nombre d'animaux seront nécessaires pour valider ces résultats préliminaires. Puisqu'une certaine redondance de fonction a été observée chez Dok-1 et Dok-2, ces expériences seront répétées avec des souris double knock-out pour ces deux gènes. Nos résultats contribueront à une meilleure compréhension de la réponse immunitaire contre le VHS-1.

A51

Rôle de PCSK9 dans l'expression des récepteurs du virus hépatite C

Tuan Quoc Le, Matthieu Blanchet and Patrick Labonté
Centre INRS-Institut Armand-Frappier

La protéine subtilisin kexin-like 9 (PCSK9) appartient à la famille des « proprotéin convertases » (PCs). Cette protéine a un rôle important dans la régulation du cholestérol sanguin par sa capacité à dégrader le « Low density lipoprotein receptor » (LDLR). LDLR étant un récepteur du virus de l'hépatite C, sa modulation par PCSK9 affecte l'entrée virale. Au cours d'une étude sur les effets de l'expression de PCSK9 à l'étape d'entrée virale, nous avons observé que la PCSK9 pouvait moduler CD81. Dans le cadre de la présente étude, nous avons reproduit des mutants naturels de PCSK9 et analysé leurs effets sur l'expression du LDLR et CD81. Les mutants ont été regroupés en 2 catégories distinctes en fonction de leur capacité à moduler la concentration en cholestérol sanguin chez l'humain: les pertes de fonction (PDF) ou gains de fonction (GDF). Nos résultats montrent que l'expression de CD81 est modulée par les mutants de PCSK9. À terme, cette étude pourrait conduire au développement de nouvelles stratégies antivirales.

A52

Importance de la variation génétique du coronavirus humain OC43 dans la neuroinvasion, le neurotropisme et la neuropathologie.

Alain LE COUPANEC, Marc DESFORGES and Pierre J. TALBOT

Laboratoire de neuroimmunovirologie, INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

Les coronavirus humains (HCoV) sont des pathogènes respiratoires qui possèdent un pouvoir neuroinvasif (capacité d'envahir le système nerveux central (SNC) à partir de la périphérie), neurotrope (capacité à infecter les cellules du SNC), et étant potentiellement associés au développement de maladies neurologiques (neurovirulents). Les études présentées ici visent d'abord à étudier les paramètres viraux de l'infection du SNC par les HCoV et les possibles conséquences neurologiques.

Une première étape sera de comparer les séquences de deux protéines structurales virales (S et HE), qui sont les principaux facteurs de virulence de la souche virale de référence, à des séquences de virus détectés dans les isolats cliniques d'expectorations des voies respiratoires. Ces deux protéines étant reconnues comme des facteurs de virulence importants au niveau du SNC chez certains coronavirus animaux (dont le murine coronavirus (MuCoV) chez la souris), il appert donc important d'en étudier le rôle dans la dissémination du HCoV-OC43 au sein du SNC. Dans cette optique, nous avons pour l'instant pu identifier une mutation prédominante (G758R) dans la protéine S de variants d'isolats cliniques du HCoV-OC43 provenant des voies respiratoires supérieures. Nos résultats, obtenus avec un virus recombinant produit à partir d'un clone infectieux et portant cette mutation, montrent que les capacités neuroinvasives de ce variant sont modulées selon l'âge des souris utilisées et que ce variant est également incapable de se propager efficacement dans la moelle épinière de la souris, en corrélation avec la modulation de pathologie observée.

Cette étude devrait nous permettre de décrypter les mécanismes et les conséquences des interactions de HCoV-OC43 avec le SNC et ainsi de pouvoir mieux comprendre les éventuelles conséquences de l'infection du SNC par un coronavirus humain chez l'humain et sur le développement éventuel de pathologies neurologiques à potentiel dégénératif.

(Soutenu par une subvention de fonctionnement des IRSC (III) et une Chaire de recherche du Canada à PJT).

A53

Brûlure, toxique et pathogénèse de la réponse immunitaire

Debbie Lim & Jacques Bernier

INRS-Institut Armand-Frappier

Les brûlures sévères induisent une perturbation du système immunitaire menant à un état d'immunosuppression, ce qui augmente la susceptibilité aux infections nosocomiales. Les études ont démontré suite à une brûlure une polarisation de la différenciation des cellules T CD4+ vers une réponse de type Th2, c'est-à-dire anti-inflammatoire. Il a récemment été démontré que le récepteur des hydrocarbures aromatiques (AhR) peut moduler la différenciation des cellules T CD4+ en faveur des cellules T régulatrices (Treg) et en défaveur des cellules Th17. Puisque la combustion incomplète de matières organiques lors d'un feu conduit à la libération dans la fumée d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et de dioxine, nous croyons qu'il soit possible que ce récepteur influence la différenciation des lymphocytes T CD4+. L'immunosuppression suite à une brûlure pourrait donc être liée à l'augmentation des cellules Treg et à la diminution des cellules Th17, attribuable à l'activation du AhR par des ligands formés lors d'une combustion. L'objectif de notre projet est de déterminer si le récepteur AhR en présence de ligand peut influencer la génération de populations cellulaires telles que les Treg plutôt que les cellules pro-inflammatoires de type Th1 et Th17. Pour ce faire, les différentes populations T CD4+ vont être déterminées par cytométrie en flux à partir du sang des grands brûlés et de pompiers exposés aux produits de combustion de la fumée. Le profil des cytokines présentes dans le sérum des patients et pompiers sera déterminé à l'aide d'une micropuce d'anticorps ciblant des cytokines inflammatoires et anti-inflammatoires. La présence de ligands naturels ou exogènes sera dans un premier temps déterminée à l'aide d'un système de gène rapporteur incluant l'élément de réponse aux xénobiotiques (XRE) — luciférase et confirmée par HPLC. Des études de corrélation nous permettront d'établir le rôle du AhR dans le profil de cellules CD4+ chez les grands brûlés et les pompiers.

A54

La tricelluline: un nouvel acteur de la barrière hémato-épididymaire

Marion Mandon et Daniel Cyr

INRS Armand-Frappier

La tricelluline est une protéine localisée au niveau des jonctions serrées, spécifiquement au niveau des jonctions serrées tricellulaires. Les jonctions serrées participent aux barrières biologiques en créant des environnements spécifiques. Dans l'épididyme, les jonctions de la barrière hémato-épididymaire (BHE) protègent les spermatozoïdes du système immunitaire et permettent de créer un microenvironnement nécessaire à la maturation des spermatozoïdes. L'épithélium épididymaire est composé de plusieurs types cellulaires dont les cellules basales ; ces cellules expriment d'autres protéines de jonctions comme la claudine-1, cependant il n'existe à ce jour aucune information concernant leur rôle dans la BHE. L'objectif de cette étude est de regarder l'expression et la localisation de la tricelluline dans l'épididyme chez le rat, ses relations avec d'autres protéines de jonctions et son implication dans les interactions entre cellules basales et principales. Des western-blots ont indiqué que la tricelluline est exprimée dans tous les segments de l'épididyme chez l'adulte des niveaux similaires. L'immunofluorescence a montré que la tricelluline est localisée au niveau des marges apicales des cellules épithéliales. Une étude de développement a montré que les niveaux de tricelluline augmentent avec l'âge. La microscopie a montré des différences de localisation pendant le développement, avec une migration du cytoplasme vers le pôle apical de la membrane plasmique. Des études de colocalisation avec l'occludine, une autre protéine de jonction, ont montré que les deux protéines sont colocalisées dans la tête et le corps, mais pas dans le segment initial ni la queue, ce qui suggère que la composition des jonctions serrées varie le long de l'épididyme. Pour comprendre si la présence de cellules basales joue un rôle dans ces différences de localisation, une colocalisation a été faite entre la tricelluline et KRT5, un marqueur cytoplasmique de ces cellules. Au niveau des projections cytoplasmiques des cellules basales, KRT5 est bien colocalisée avec la tricelluline. L'utilisation de siRNA a montré qu'une diminution des niveaux de tricelluline entraîne une baisse des niveaux des claudines et d'occludine. La mesure de la résistance transépithéliale dans des cellules épididymaires suggère un rôle important de la tricelluline dans la BH.

A55

Étude d'une bactérie dénitrifiante du Biodôme de Montréal

Florian Mauffrey, Christine Martineau, Céline Villeneuve et Richard Villemur

INRS Institut Armand-Frappier

Le nitrate est une molécule soluble qui diffuse rapidement dans les eaux de surfaces et les eaux souterraines, contaminant ainsi l'eau potable. Le nitrate contribue à l'eutrophisation des lacs et des rivières et devient toxique pour les animaux à partir de certaines concentrations. *Methylophaga nitratireducticrescens* JAM1 est une bactérie méthylotrophe isolée à partir d'un système de dénitrification d'eau de mer supplémenté en méthanol au Biodôme de Montréal. Cette bactérie compose à elle seule plus de 50% du biofilm dénitrifiant retrouvé dans le système de dénitrification. Contrairement aux autres espèces de *Methylophaga*, la souche JAM1 possède la particularité de croître dans des conditions dénitrifiantes en présence de nitrate et de méthanol. La croissance de JAM1 dans les conditions dénitrifiantes, réduisant le nitrate en nitrite, est corrélée avec la présence de deux gènes codant pour des nitrate reductase narG. Le génome de JAM1 a été séquencé et consiste en un chromosome de 3,137,192 bp. Le séquençage du génome de JAM1 a confirmé la présence de deux opérons nar mais aussi de deux opérons nor (nitric oxide reductase) et d'un opéron nos (nitrous oxide reductase). De plus, une séquence nirK codant pour une nitrite reductase tronquée de 82 acides aminés a été trouvée, ce qui pourrait expliquer que la souche JAM1 est seulement capable de réduire le nitrate en nitrite. Notre travail consiste à étudier les gènes de dénitrification de la souche JAM1. Les deux gènes narG sont exprimés aussi bien en conditions aérobies que dénitrifiantes. Par ailleurs, les autres gènes liés à la dénitrification sont également exprimés, incluant le nirK tronqué. Des mesures d'expression ont montré que les gènes narG étaient exprimés différemment en fonction des conditions de cultures. Un mutant knockout de narG1 a montré de grosses différences de croissance et de taux de réduction du nitrate par rapport à la souche sauvage. Des différences d'expression du gène narG2 entre le mutant narG1 et la souche sauvage ont également été démontrées. La construction du mutant knockout narG2 est en cours et permettra de révéler l'importance de ce gène pour la croissance de la bactérie et la réduction du nitrate.

A56

La voie p38-MSK1 influence la production de cytokines via les facteurs CREB et C/EBP chez le neutrophile humain

T.Z. Mayer, F.A. Simard, A. Cloutier, et Patrick P. McDonald

Université de Sherbrooke

Les neutrophiles influencent l'immunité innée et adaptative en produisant une vaste gamme de cytokines et de chimiokines dont la régulation est en grande partie sous contrôle transcriptionnel. Dans cette étude, nous montrons que les facteurs de transcription CREB1 et ATF-1 jouent également un rôle primordial dans cette réponse fonctionnelle. La stimulation de neutrophiles avec des agonistes physiologiques (LPS, TNF) mène à une augmentation rapide de la phosphorylation de CREB1 et d'ATF-1 et accroît leur activité de liaison à l'ADN, ainsi que leur interaction avec le promoteur de plusieurs chimiokines. Nous montrons également que ces réponses des facteurs CREB, ainsi que celles du facteur C/EBP β , ont lieu en aval de la voie de signalisation TAK1-p38-MSK1. D'un point de vue fonctionnel, l'inhibition de TAK1, p38 MAPK, ou MSK1 interfère avec la production de cytokines chez les neutrophiles. En accord avec ces résultats, la production des mêmes cytokines est diminuée par la surexpression d'un mutant dominant négatif (K-CREB) et d'un mutant ponctuel (S133) de CREB1 dans la lignée cellulaire humaine PLB-985 différenciée en neutrophiles. Cette étude dévoile plusieurs cibles moléculaires potentielles qui revêtent un intérêt particulier, eu égard aux nombreuses maladies inflammatoires chroniques dans lesquelles les neutrophiles jouent un rôle de premier plan.

A57

Évaluation de la combinaison génistéine/décitabine sur l'expression de marqueurs connus dans le cancer du sein

Natasha Mercier, Michel Charbonneau et Isabelle Plante

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec

Selon des études épidémiologiques, la consommation de génistéine, une composante du soya, diminue le risque de cancer du sein. De plus, une compilation d'études démontre que cette molécule diminue la prolifération de certains types de cellules cancéreuses. Il a été suggéré que cette baisse serait due à des mécanismes épigénétiques, menant aux changements de l'expression des gènes importants dans la cancérogenèse. La décitabine est un agent permettant l'hypométhylation de l'ADN, souvent utilisé dans les traitements de chimiothérapie. Une étude clinique est en cours pour évaluer l'efficacité de la génistéine en combinaison avec la décitabine pour le traitement de cancer du poumon. L'objectif de ce projet de recherche est de déterminer si cette combinaison peut également être efficace pour le traitement du cancer du sein, et d'en déterminer les mécanismes d'action. Deux lignées cancéreuses de sein ont été choisies: les MDA-MB-231 (triples négatifs) et T47D (luminal A). Les cellules ont été traitées par différentes doses de génistéine (10, 25, 50 et 100 μ M) combinées avec la décitabine (20nM). Des analyses de viabilité ont démontré une baisse significative des cellules MDA-MB-231, de façon dose-dépendante, suite au traitement. De plus, le traitement résulte en une diminution des récepteurs à la progestérone (PR) dans les fractions cytoplasmiques et une augmentation de l'expression nucléaire du récepteur aryl hydrocarbon (AhR) dans les T47D. Bien que le AhR ne soit pas connu comme un marqueur dans le cancer du sein, il a été démontré que son activation par divers produits chimiques, tel la TCDD, permet la baisse de prolifération de plusieurs types de cellules cancéreuses mammaires. Un traitement à TCDD (5.3nM) induit une baisse de viabilité et une translocation nucléaire d'AhR dans les T47D. Des analyses sont en cours pour évaluer l'effet sur l'expression protéique de différents marqueurs du cancer du sein dans les MDA-MB-231. L'ensemble de ces résultats suggère que cette combinaison pourrait être un traitement prometteur pour le cancer du sein puisqu'il module sur l'expression de protéines clés dans la transformation des cellules. Financé par le CRSNG, la SRC et la FCSQ.

A58

Découverte *de novo* d'ARN noncodants régulateurs de cations chez les procaryotes

Mohammad Reza Naghdi, Jonathan Perreault

INRS-Institut Armand-Frappier

Les microorganismes se comportent selon la variation de l'environnement comme la température, la variation de pH et aussi le changement des concentrations de substances diverses. Les bactéries sont capables de maintenir leurs cellules stables malgré la variation de l'environnement avec leurs systèmes de régulation. Quant aux métaux, des bactéries font face à un dilemme. D'une part, ils sont essentiels pour les bactéries, par exemple la plupart des enzymes de polymérisation ont besoin de Mg^{2+} , et d'autre part à concentration élevée, les ions métalliques sont toxiques pour les bactéries. Jusqu'à aujourd'hui, plusieurs systèmes de régulation basés soit sur des protéines, soit sur des ARN noncodants ont été découverts. Les ARN noncodants impliqués dans la régulation des métaux se catégorisent en deux groupes, des petits ARN (sRNA) et des *riboswitchs*. Après la première découverte de *riboswitchs* et leur rôle important dans la régulation de gènes, en particulier chez les procaryotes, plusieurs *riboswitchs* ont été découverts au cours de ces dix dernières années. Actuellement, il y a deux classes de *riboswitchs* spécifiques pour le Mg^{2+} . Nous émettons l'hypothèse qu'il existe d'autres *riboswitchs* régulateurs spécifiques pour les cations. Nous présentons par la suite deux nouveaux ARN noncodants qui pourraient avoir un rôle régulateur potentiel chez certains procaryotes.

A59

Interaction entre les neutrophiles et les nanoparticules : réarrangement du cytosquelette.

Claudie Noël, Jean-Christophe Simard et Denis Girard

Laboratoire d'inflammation et physiologie des granulocytes, INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, Québec

Les nanoparticules (NPs) sont de plus en plus présentes dans la vie quotidienne. Ces dernières dont leurs trois dimensions possèdent un diamètre entre 1 et 100 nm sont utilisées dans plusieurs domaines et leurs effets sur la santé ne sont pas encore bien connus bien que l'inflammation soit un des effets toxiques des plus documentés dans la littérature. Dans le cadre du présent projet, l'action de NPs sur les neutrophiles, cellule clef de l'inflammation, est analysée afin de déterminer une dualité fonctionnelle, l'apoptose et la dégradation/relocalisation des protéines du cytosquelette. De récentes recherches effectuées dans notre laboratoire, ont montré que les NPs d'argent à 20 nm induisaient l'apoptose alors que celles à 70 nm la retardaient. De plus, le comportement des protéines du cytosquelette des neutrophiles stimulés avec des NPs est étudié. Les protéines du cytosquelette sont essentielles pour tous les types de cellules afin de leurs permettent de réaliser plusieurs fonctions telles: le maintien de la morphologie, la capacité d'adhérer sur divers substrats et la capacité de se mouvoir. Ici, à l'aide d'immunobuvardage de type western et de l'immunofluorescence, nous démontrons que certaines NPs d'argent qui sont apoptotiques pour les neutrophiles induisent également un démantèlement du cytosquelette traduit par la dégradation de différentes protéines. L'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques nous permettrons de mieux comprendre comment s'exerce la dégradation des protéines à savoir si cela se produit via les caspases ou autres protéases. De plus, nous allons déterminer si les NPs, comparativement à des agents proapoptotiques classiques des neutrophiles, provoque une relocalisation des protéines à la surface des cellules comme la vimentine, la lamine B1, l'ézrine et la moésine. Ces diverses analyses permettront de mieux comprendre l'action des NPs sur le cytosquelette et la biologie des neutrophiles humains.

A60

Étude de l'importance fonctionnelle du mouvement de type "thumb-loop" chez la xylanase B

Nhung Nguyen Thi & Nicolas Doucet

INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, 531 Boul. des Prairies, Laval, Québec, Canada.

Les xylanases sont impliquées dans la dégradation de l'hétéroxylane (hémicellulose), l'un des principaux composants des parois cellulaires végétales. Ces enzymes forment un groupe de biocatalyseurs hautement homologues et présentant une structure conservée de type "β-jelly-roll". Les structures cristallines et les simulations de dynamique moléculaire en présence et en absence de ligand ont démontré l'existence d'un mouvement de type "thumb-loop" à proximité du site actif, qui pourrait jouer un rôle important dans la liaison du substrat et/ou de la catalyse enzymatique. La présente étude décrit l'attribution des résonances ainsi que des expériences de dispersion de relaxation RMN associées à l'étude de la dynamique chez la xylanase B (XlnB) de *Streptomyces lividans* dans sa forme libre et liée. Nos données ¹⁵N-CPMG démontrent que les motions moléculaires à l'échelle de temps de la catalyse enzymatique se localisent principalement aux extrémités (brins β2, β3, β4), qui forment le site catalytique. Étonnamment, aucun mouvement à l'échelle de temps de la milliseconde n'est observé sur la "thumb-loop" ou dans son environnement immédiat. Alors que la liaison du xylobiose démontre l'importance des résidus "thumb-loop" dans la reconnaissance du ligand, la flexibilité de ce motif spécifique ne semble pas jouer un rôle important dans l'événement catalytique. Toutefois, nos résultats démontrent la présence d'un échange conformationnel aux extrémités, notamment sur l'un des murs du site actif de la XlnB, suggérant l'existence d'un mouvement de « pincement » dans la structure. Nos données ¹⁵N-CPMG indiquent des mouvements très similaires pour l'enzyme libre et liée, ce qui suggère que le comportement dynamique de l'enzyme permet l'échantillonnage de la forme liée minoritaire même en absence de ligand, supportant le modèle de sélection conformationnelle.

A61

Caractérisation de variants phénotypiques de *Pseudomonas aeruginosa* capable de croître sur de l'hexadécane

Thuy Thanh Nguyen¹, Éric Déziel¹, Gianluca G. Nicastro², François Lépine¹, Richard Villemur¹

¹INRS-IAF, Laval, QC

²Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Brasil

Les souches de *P. aeruginosa*, isolées de sols contaminés aux hydrocarbures, peuvent se développer sur des substrats hydrophobes tels que les alcanes et les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Cependant, ces hydrocarbures sont très peu solubles dans l'eau, ce qui entraîne une réduction de la biodisponibilité et de la croissance des bactéries. *P. aeruginosa* peut réguler sa physiologie pour s'adapter et développer plus efficacement sur ces hydrocarbures. Ces changements physiologiques incluent des modifications dans l'hydrophobicité de la surface cellulaire, la capacité à adhérer et à former un biofilm, et enfin la production de biosurfactants. Notre laboratoire a montré que la croissance sur des alcanes linéaires liquides tels que l'hexadécane est favorisée chez certaines souches de *P. aeruginosa* par la formation de variant phénotypiques (dites SCV), qui sont plus adhérents et plus hydrophobes que la forme de phénotype sauvage. La caractérisation des SCV a montré une réduction de la motilité de type *swimming* et *swarming*, tandis que la motilité de type *twitching* a augmenté. Les SCV de la souche 57RP affichent de meilleures capacités dans la formation de biofilms et dans l'adhérence aux hydrocarbures par rapport à la souche sauvage. Nous avons étudié les niveaux intracellulaires du second messager c-di-GMP, qui a été montré être fortement impliqué dans la formation de SCV chez des souches de *P. aeruginosa* isolées de patients. Nos résultats ont montré une nette augmentation par rapport au type sauvage. Afin de démontrer l'importance du niveau de c-di-GMP chez les SCV, la souche 57RP sauvage a été transformée avec un plasmide portant soit le gène *pvrR* (impliqué dans la dégradation du c-di-GMP), ou le gène PA14-72420 (impliqué dans la synthèse de c-di-GMP). Les résultats ont indiqué que la souche 57RP(pPA14-72420) cultivée sur de l'hexadécane produit, par rapport à la souche 57RP(p*pvrR*), un niveau plus élevé de c-di-GMP en plus d'avoir une meilleure croissance sur l'hexadécane et de produire plus de biofilm. Nos résultats démontrent l'importance des changements physiologiques des bactéries pour la croissance sur des composés carbonés très peu solubles.

A62

Criblage des bactéries et des champignons microscopiques possédant une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*

Snizhana Olishvska et Éric Déziel

INRS-Institut Armand-Frappier

L'usage fréquent et abusif des antibiotiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne ou fongique est l'un des facteurs essentiels dans le développement et l'évolution de la résistance microbienne, devenue un sérieux problème de santé publique. Il y a donc présentement une urgence à découvrir de nouvelles molécules antimicrobiennes. Les pathogènes *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* sont parmi les micro-organismes présentant le plus de résistance aux antibiotiques. L'objectif de ce projet consiste à isoler de divers écosystèmes et à cribler des souches bactériennes et des champignons microscopiques producteurs des métabolites secondaires extracellulaires anti-*S. aureus* et anti-*P. aeruginosa*.

Au total, 612 souches bactériennes et 124 souches de champignons ont été isolées à partir de 123 échantillons environnementaux, notamment de sol, de l'eau, de feuilles et de fruits de plantes prélevés de régions différentes du Québec en 2011-2013. L'activité antimicrobienne de souches isolées contre les souches cliniques et multi-résistantes aux antibiotiques, *S. aureus* ED711 (SARM) et *P. aeruginosa* ED416A (kanamycine, gentamycine, carbenicilline), a été recherchée par la technique de diffusion de leurs filtrats de surnageant en gélose en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition des pathogènes. Donc, 83 et 22 souches bactériennes respectivement ont manifesté une activité microbienne contre *S. aureus* ED711 et *P. aeruginosa* ED416A. Parmi celles-ci, les filtrats de *Burkholderia thailandensis* ED868 et *Bacillus* sp. 329 ont formé les plus grandes zones d'inhibition de *S. aureus* ED711 (60.0 ± 0.48 mm) et de *P. aeruginosa* ED416A (23.2 ± 0.63 mm) respectivement. Cependant, seulement 13 souches des champignons ont présenté une activité contre *S. aureus* ED711, parmi lesquelles *Penicillium* sp. VFr37 a formé la plus grande zone d'inhibition (44.0 ± 1.00 mm). *Aspergillus niger* 8PT était la seule souche des champignons dont le filtrat a formé une zone inhibitrice (13.8 ± 0.31 mm) chez *P. aeruginosa* ED416A.

Le criblage réalisé a mis en évidence plusieurs souches bactériennes et de champignons productrices d'exométabolites secondaires anti-*S. aureus* et anti-*P. aeruginosa*.

A63

Biodisponibilité et effets du bismuth associés aux sols contaminés par les explosifs sur les invertébrés terrestres et les plantes

Zohra Omouri^{1,2}, Michel Fournier², Pierre Yves Robidoux^{1,2}

¹ Conseil national de recherche Canada édifice Montréal, 6100 avenue Royalmount, Montréal, Québec, Canada, H4P 2R2

² INRS-Institut Armand Frappier, 531 boulevard des prairies, Laval, Québec, Canada, H7V 1B7

Les sols des sites d'entraînement et des essais militaires sont contaminés par les composés énergétiques et plusieurs métaux. La toxicité de ces composés et les risques qu'ils présentent pour les organismes vivants et les écosystèmes ont été mis en évidence par plusieurs études. De ce fait, des composés de substitution moins toxiques sont de plus en plus proposés. Au cours des dernières années, le Bi est de plus en plus utilisé comme alternative pour remplacer le Pb dans plusieurs domaines entre autres le domaine de la fabrication des munitions. Par conséquent, les concentrations en bismuth pourraient augmenter considérablement dans les sols militaires. Actuellement, les effets du bismuth sur l'environnement et les organismes terrestres restent peu connus, très peu investigués et non réglementés. Récemment, certains auteurs ont même suggéré de réexaminer l'utilisation du bismuth comme alternative moins toxique sur la santé animale et humaine, en considérant les carences liées aux données utilisées dans l'évaluation précédente. L'objectif de ce travail est d'évaluer les effets toxiques du bismuth sur deux espèces représentatives du sol : le ver de terre *Eisenia andrei* et la plante *Lolium perenne*. De plus, la biodisponibilité du bismuth dans diverses conditions d'exposition *in vitro* et *in vivo* est étudiée. La biodisponibilité est un facteur important à considérer puisqu'elle influence directement la toxicité des contaminants. Les résultats préliminaires d'évaluation des effets du bismuth sur la germination et la croissance de la plante *Lolium perenne*, ainsi que sur la croissance et les réponses de certains biomarqueurs chez le ver de terre *Eisenia andrei* seront présentés.

A64

Évaluation écotoxicologique du traitement des eaux usées par ozonation : étude *in vivo* chez la moule d'eau douce *Elliptio complanata*

Pédelucq J.^{1,2}; Blais M.³; Lacaze E.¹; Fortier M.¹; Rault P.¹; Mazzelier P.²; Budzinski H.²; Fournier M.¹; Brousseau P.¹

¹ Laboratoire d'immunotoxicologie, INRS-Institut Armand-Frappier, 531 boulevard des Prairies Laval (Qc) H7V 1B7 Canada.

² LPTC, UMR EPOC 5805, 351 cours de la Libération 33400 Talence France.

³ Credeau, École Polytechnique de Montréal, 2900 boul Edouard-Montpetit Montréal (Qc) H3T 1J4 Canada.

Le rejet des eaux usées est une des principales sources de pollution des milieux aquatiques récepteurs. De plus, en raison de l'urbanisation croissante, le volume des rejets urbains augmente, ce qui entraîne un risque de contamination accru pour les écosystèmes aquatiques. Cependant, plusieurs traitements ont été mis en place afin de limiter la toxicité de ces effluents. Parmi eux l'ozonation qui est un procédé de désinfection capable d'éliminer une très grande diversité de micropolluants, réduisant ainsi la toxicité des rejets pour les organismes aquatiques. Du fait de l'importance de l'ozonation, nous avons voulu évaluer les réponses des hémocytes de moules d'eau douce (*Elliptio complanata*) lors d'une exposition *in vivo* à des effluents traités par ozonation. Les hémocytes sont acteurs des réponses du système immunitaire chez les bivalves. Ils jouent un rôle primordial dans la défense de l'organisme lors de contact avec différents facteurs de stress comme la présence de xénobiotiques. Ainsi dans cette étude, des bivalves d'eau douce ont été exposés durant 28 jours à différents affluents, effluents et effluents traités à l'ozone. A la fin de cette exposition, l'hémolymphe (fluide contenant les hémocytes) des bivalves a été prélevée afin de mesurer plusieurs biomarqueurs tels que la densité cellulaire, la viabilité cellulaire et l'efficacité de la phagocytose grâce à la cytométrie en flux. L'activité de la cyclooxygénase, la production de NO et les dommages à l'ADN sur les hémocytes ont également été étudiés. Nous avons alors pu observer que suite au traitement à l'ozone les dommages à l'ADN ont diminué. De plus, nous avons observé que la viabilité et l'immunité naturelle des moules exposées n'ont pas été modifiées par l'ozonation.

A65

Le blocage de la fusion du lysosome avec l'autophagosome par la protéine NS4B du virus de l'hépatite C mène à un flux autophagique incomplet

Alain Perks et Patrick Labonté

IAF INRS

Donc l'autophagie est un processus qui se trouve à être fortement conservé au courant de l'évolution qui permet le recyclage de nutriments et la dégradation de protéines endommagées. Au courant des dernières années, il a été trouvé que celui-ci est aussi important pour l'immunité contre des infections de la cellule par des parasites intracellulaires. Cependant, les virus ont trouvé des façons de contourner l'autophagie pour pouvoir proliférer dans la cellule. En parallèle, certains virus semblent avoir tiré profit de l'autophagie et utilise ce mécanisme pour leur réplication comme le virus de l'hépatite C (VHC) qui utilise les vacuoles autophagiques comme site pour sa réplication. Cependant, il a été observé que, lors d'une infection par le VHC, la fusion entre l'autophagosome et le lysosome est bloqué, menant à un flux autophagique incomplet. En bloquant le flux de l'autophagie à ce point, le virus peut éviter la dégradation de son génome en évitant l'acidification de la vacuole dans lequel il se réplique. Il a été trouvé que le VHC utilise la protéine non structurale 4B (NS4B) pour induire l'autophagie qu'il utilise pour sa réplication et donc nous cherchons à déterminer si celui-ci participe quant au blocage du flux autophagique. Avec les données préliminaires de cette expérience, nous avons trouvé que la NS4B semble être suffisante pour bloquer la fusion du lysosome avec l'autophagosome et d'induire le flux autophagique incomplet que le VHC utilise lors de sa réplication. Une étude plus approfondie permettrait de mieux comprendre le processus de réplication du VHC, un virus chronique qui affecte plus de 100 millions de personnes à travers le monde, et potentiellement trouver de meilleur traitement contre ce virus dont le traitement actuel est inefficace contre la majorité des génotypes du virus et de mieux caractérisé le processus autophagique.

A66

Métabolisme du 4-hydroxy-4'-chlorobiphényle par les enzymes de la voie catabolique du biphényle

Thi Thanh My Pham et Michel Sylvestre

INRS - Institut Armand-Frappier

Dans ce travail, nous avons déterminé le profil des métabolites produits à partir du 4-hydroxy-4'-chlorobiphényle par la bactérie *Pandoraea pnomenusa* B356 induite au biphényle et par sa biphényle dioxygenase. Lorsque l'analogue du biphényle doublement substitué en position *para* servait de substrat pour la réaction catalysée par la dioxygénase du biphényle de la souche B356, aucun des métabolites dihydro-dihydroxy attendus n'a pas été détecté. Ce substrat était plutôt converti en 3,4-dihydroxybiphényle, qui était rapidement ré-oxydé par la dioxygénase du biphényle pour générer du 3,4,5-trihydroxy-4'-chlorobiphényle, ce dernier représentant le métabolite majeur de cette réaction. On y retrouvait aussi plusieurs autres métabolites mineurs, dont entre autres, du 4-(4-chlorophényle)-*cis*-5,6-dihydroxycyclohex-3-en-1-one et du 2',3',4-trihydroxy-4'-chlorobiphényle. Les mécanismes impliqués dans la production de ces métabolites inattendus restent inconnus, mais l'ensemble de nos données montre que les dérivés dihydro-dihydroxy du 4-hydroxy-4'-chlorobiphényle sont soit sujet à un réarrangement ou ils sont transformés à l'intérieur de la poche catalytique de la biphényle dioxygénase pour générer des métabolites dont plusieurs ne peuvent pas être métabolisés par les enzymes subséquents de la voie cataboliques et ils s'accumulent dans le milieu de culture.

A67

Impact de l'H₂ sur la diversité microbienne et les propriétés physicochimiques de sols agricoles

Sarah Piché-Choquette et Philippe Constant

INRS-IAF, Laval

L'enrichissement du sol en azote par les légumineuses ne serait pas le seul facteur améliorant les rendements agricoles lors de la rotation des terres. Des études ont démontré que l'hydrogène (H₂), un sous-produit de la nitrogénase, peut aussi augmenter la croissance des plantes. Il est suggéré que l'H₂ diffusant dans le sol enrichi les bactéries oxydant l'H₂, (BOH) dont des espèces connues pour promouvoir la croissance des plantes. Il y aurait ainsi un effet direct de l'H₂, donc une simple relation plante-bactérie. Nous avons émis l'hypothèse que l'H₂ exerce également un effet indirect sur la croissance des plantes. Les BOH interagiraient avec les microorganismes du sol impliqués dans les cycles biogéochimiques, menant à des conditions favorables pour les plantes. L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact de l'H₂ sur la structure microbiogéochimique du sol. Des microcosmes de sol ont été exposés à de l'air contenant soit 500 ou 0,5 ppmv d'H₂. Le débit d'air a été choisi afin de reproduire la dose d'exposition du sol à l'H₂ diffusant des nodules (500 ppmv) ou à l'H₂ atmosphérique (0,5 ppmv). Des analyses microbiologiques et physicochimiques ont été faites sur des échantillons prélevés au cours de l'incubation de 35 jours. Jusqu'à présent, deux principales variables ont été mesurées. L'activité des BOH atmosphérique a d'abord été évaluée par chromatographie. Cela a permis d'observer que les fortes doses d'H₂ diminuaient l'activité des BOH, plus efficaces en présence de traces d'H₂ (<10 ppmv d'H₂). Puis, les plaques Ecoplates (Biolog) ont permis de mesurer l'utilisation de 31 sources de carbone. Une matrice de distance a été calculée pour comparer le profil métabolique des échantillons, puis elle a été transposée en dendrogramme. Celui-ci a démontré que les microcosmes exposés à 0,5 ppmv d'H₂ perdaient de la diversité catabolique alors que cette perte fut moindre pour les microcosmes exposés à 500 ppmv d'H₂. Un ribotypage des échantillons est en cours d'exécution à l'aide de la plateforme de séquençage Illumina. Ces résultats permettront de reconstruire les réseaux moléculaires écologiques et d'identifier les microorganismes en relations mutualistes ou compétitives avec les BOH, influençant ainsi la structure microbiogéochimique du sol de manière bénéfique pour les plantes.

A68

Mort neuronale induite par un coronavirus humain

Mathieu M. PINARD, Marc DESFORGES et Pierre J. TALBOT

Laboratoire de neuroimmunovirologie, INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Québec

Les coronavirus humains (HCoV) sont des pathogènes respiratoires causant le plus fréquemment le rhume mais aussi des pneumonies et l'exacerbation de l'asthme. Nous avons démontré que la souche OC43 (HCoV-OC43) peut également être associée à des maladies neurodégénératives. En effet, HCoV-OC43 a la capacité d'infecter et de se répliquer dans les cellules du système nerveux central où le neurone est la cible principale, provoquant ainsi la mort de cette cellule essentielle. Or, la mort des neurones suite à l'infection semble être induite via différentes voies métaboliques et par divers facteurs cellulaires associés à ces voies; dont entre autres les protéines Bax, AIF et RIP1/3. De plus, la glycoprotéine de surface S semble également être impliquée dans la régulation de la mort cellulaire puisque certains virus portant des mutations de cette protéine augmentent la mort neuronale. Nous avons précédemment démontré que Bax et AIF sont activés suite à l'infection d'une lignée neuronale humaine (LA-N-5). De plus, les protéines RIP1/3 auraient un rôle à jouer dans la mort des neurones utilisés dans des modèles de maladies neurologiques. En utilisant le modèle cellulaire LA-N-5 de neurones humains, nous avons démontré que Bax ne semble pas jouer un rôle important dans la mort neuronale alors que AIF et RIP1/3 demeurent des candidats intéressants pouvant expliquer l'activation des processus de mort cellulaire. En effet, suite à l'infection de cellules LA-N-5, les niveaux en ARNm des protéines RIP1/3 augmentent de façon significative. De plus, en utilisant des inhibiteurs chimiques de la protéine RIP1, la mortalité cellulaire induite par l'infection des neurones est atténuée. Par une approche d'ARN interférant (ARNi), l'expression des protéines AIF et RIP1/3 sera diminuée afin de déterminer si ces protéines jouent véritablement un rôle dans la mort neuronale induite par l'infection. Cette étude tente de clarifier les mécanismes impliqués dans la mort des neurones infectés par HCoV-OC43, de comprendre l'importance de la protéine virale S dans le processus et d'établir un lien entre l'infection et la dégénérescence de neurones. (Subventionné par l'IMH des IRSC et Chaire de recherche du Canada à PJT, bourse FRQS à MMP).

A69

L'infection par *Mycobacterium tuberculosis* induit des modifications globales fonctionnelles au niveau du phagosome et du métabolisme des lipides chez les macrophages

Maria Podinovskaya^{1,2}, Wonsik Lee², Shannon Caldwell², David G. Russell²

¹ INRS-Institut Armand-Frappier

² Cornell University

L'infection de macrophages par *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) conduit à des changements marqués au niveau du comportement du macrophage ainsi qu'au niveau des tissus affectés, au fur et à mesure que la bactérie module son milieu afin de promouvoir sa survie. Nous avons étudié les changements physiologiques des macrophages infectés au niveau du phagosome, médiateur central des fonctions homéostatiques et microbicides du macrophage. Nous décrivons des nouveaux tests physiologiques fonctionnels pour sonder la biologie du réseau phagosomal dans les macrophages infectés par Mtb. Les résultats démontrent que l'activité oxydative du phagosome est améliorée et que l'activité lipolytique est diminuée de façon dépendante de TLR2/TLR4 suite à une infection par Mtb. Il y a quelques différences spécifiques aux espèces ou au type de cellule entre les macrophages humains et murins dans les taux d'acidification et de protéolyse, mais toutes les modifications observées sont en accord avec une augmentation de l'état d'activation de la cellule. La réduction marquée de la lipolyse dans le phagosome est en corrélation avec l'augmentation prononcée de la rétention des lipides de macrophage dans les cellules infectées. De plus, les observations que les lipides marqués par fluorescence trafiquent au Mtb intracellulaire suggèrent que les lipides du macrophage constituent une source potentielle de nutriments qui peuvent être accessibles par Mtb. D'autres modifications de l'infection par Mtb au métabolisme des lipides dans les macrophages sont présentement à l'étude.

A70

Étude comparative entre les nanoparticules d'argent de 20 et de 70 nm sur la physiologie des neutrophiles humains

Michelle Poirier, Jean-Christophe Simard, Francis Antoine et Denis Girard

Laboratoire de recherche en inflammation et physiologie des granulocytes, IAF

La résolution de l'inflammation est régulée par les phagocytes professionnels qui éliminent les polymorphonucléaires neutrophiles (PMNs) apoptotiques via la phagocytose. Sous certaines conditions, des nanoparticules (NPs), peuvent retarder l'apoptose spontanée des PMNs. L'apoptose pourrait être affectée par la nature de la NP et par son diamètre. Dans cette étude, nous voulons déterminer si la NP d'argent (AgNP) affecte le taux d'apoptose des PMNs humains et vérifier le rôle du diamètre. Les PMNs ont été isolés de volontaires sains et incubés *in vitro* avec diverses concentrations d'AgNP de diamètre de 20nm (AgNP₂₀) et de 70nm (AgNP₇₀). La toxicité a été déterminée par la technique d'exclusion au bleu trypan et par la présence de lactate déhydrogénase (LDH). L'apoptose a été évaluée par cytologie et par cytométrie en flux (FACS) en dénombrant le nombre de cellules annexine V-FITC positive. L'internalisation des NPs a été observée par microscopie électronique à transmission, la production d'interleukine-8 (IL-8) par ELISA et l'activité gélatinolytique par zymographie. La synthèse *de novo* des protéines a été étudiée par électrophorèse après marquage métabolique (³⁵S) et la génération de réactifs oxygénés (ROS) par FACS. Finalement, les événements de phosphorylation ont été observés par Western Blot. Aucune nécrose des PMNs n'a été observée avec l'AgNP₇₀. Les mêmes résultats ont été observés pour AgNP₂₀ à l'exception de ≈10% de nécrose à 100µg/ml. Aucune augmentation de LDH n'a été observée et le taux d'apoptose est similaire au témoin pour toutes les concentrations d'AgNP_{20/70} sauf pour 100µg/ml d'AgNP₂₀ où le taux d'apoptose augmente alors que celui d'AgNP₇₀ est retardé. La production de base d'IL-8 est augmentée à 100µg/ml (d'un facteur de 100 pour AgNP₂₀ et d'un facteur de 5 pour AgNP₇₀). La MET nous a permis d'observer l'internalisation des AgNP₂₀ mais pas des AgNP₇₀. Aucune augmentation significative des ROS n'a été observée. AgNP_{20/70} inhibent la synthèse des protéines après 24h. L'analyse des résultats de la zymographie et des événements de phosphorylation est en cours. Les AgNPs peuvent affecter les taux d'apoptose des PMNs humains et les effets opposés sont associés à leur diamètre.

A71

Impact de l'utilisation des terres sur la distribution et l'activité des bactéries oxydant le monoxyde de carbone atmosphérique

Liliana Quiza, Isabelle Lalonde, Philippe Constant.

INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Québec

Les bactéries carboxydovores du sol séquestrent le monoxyde de carbone (CO) atmosphérique, atténuant ainsi une fraction importante de ses émissions anthropiques. Malgré leur forte implication dans la régulation du bilan radiatif terrestre, très peu de bactéries carboxydovores ont été identifiées jusqu'à maintenant. La CO-déhydrogénase (CODH) est l'enzyme catalysant la réaction d'oxydation du CO chez ces bactéries démontrant une affinité exceptionnellement élevée pour leur substrat. Des analyses phylogénétiques du gène *coxL*, codant pour la grande sous-unité de la CODH, ont révélé l'existence de deux classes différentes (OMP et BMS). La classe de CODH conférant une haute affinité pour le CO est encore inconnue, ce qui limite notre capacité à étudier ce groupe fonctionnel. L'objectif de cette étude est de vérifier comment l'utilisation des terres influence le puits biologique du CO atmosphérique et d'identifier les bactéries carboxydovores du sol. Le projet a été établi pour tester l'hypothèse que la diversité des bactéries oxydant le CO est influencée par les propriétés physico-chimiques du sol et reflète l'activité de consommation de CO dans le sol. Des échantillons de sol ont été prélevés dans trois écosystèmes contrastants : une forêt de feuillus, un champ de maïs et une plantation de mélèzes. Trois groupes de variables environnementales ont été analysés : (i) la diversité du gène *coxL*, en utilisant un nouvel essai de PCR universel, (ii) l'activité d'oxydation du CO par chromatographie en phase gazeuse, et (iii) les propriétés physico-chimiques du sol. Les résultats démontrent que la conversion d'une forêt de feuillus en monoculture de maïs ou de mélèzes aurait pour effet de diminuer l'activité des bactéries carboxydovores. Une analyse d'ordination canonique a permis de déterminer que les delta-Protéobactéries joueraient un rôle important dans le cycle du CO et que leur activité serait favorisée par une forte teneur en carbone dans le sol. Des travaux sont actuellement en cours pour isoler ces microorganismes et évaluer leur abondance dans le sol. Les résultats de cette recherche contribueront à élaborer des modèles de nouvelle génération destinés à prédire la réponse du puits biologique du CO atmosphérique aux changements climatiques.

A72

Les régulateurs de l'homéostasie du fer, Fur et RyhB, sont impliqués dans la virulence de la souche d'*Escherichia coli* CFT073 associée aux infections urinaires

Gaëlle Porcheron, Rima Habib, Sébastien Houle, Mélissa Caza, François Lépine et Charles M. Dozois
INRS-Institut Armand Frappier, 531 boul. des Prairies, Laval, Québec, Canada H7V 1B7

Le fer est un métal essentiel pour la survie des organismes, mais peut être hautement toxique en présence d'oxygène. Les bactéries ont donc développé des systèmes de régulation afin de maintenir un apport en fer suffisant tout en contrôlant sa toxicité. Chez *E. coli*, l'acquisition et le stockage du fer sont contrôlés par la protéine Fur (Ferric uptake regulator) et le petit ARN non codant RyhB. Les études antérieures portant sur Fur et RyhB ont été réalisées chez une souche d'*E. coli* non pathogène. A ce jour, les rôles de ces 2 régulateurs concernant la production de systèmes de captation du fer, la résistance au stress oxydatif et la virulence chez des souches d'*E. coli* pathogènes ne sont pas connus. Nous avons donc étudié le rôle de Fur et RyhB dans l'homéostasie du fer et dans la virulence de la souche d'*E. coli* pathogène CFT073 responsable d'infections du tractus urinaire chez l'Homme. La capacité d'une souche délétée pour ces 2 régulateurs à survivre en présence d'un stress oxydatif associé au H₂O₂ a été fortement diminuée. Une souche délétée de fur produisait plus des trois types de sidérophores (molécules d'acquisition du fer) entérobactine, aéro bactéine et salmochelines, alors qu'une souche délétée de ryhB en produisait moins. Dans un modèle de co-infection du tractus urinaire de souris entre la souche CFT073 et les mutants délétés de fur, ryhB, ou fur et ryhB, toutes les souches mutantes étaient atténuées par rapport à la souche sauvage au niveau des reins. Dans un modèle de mono-infection, la souche délétée de fur et ryhB était atténuée au niveau de la vessie. Finalement, nous avons montré par qRT-PCR que plusieurs gènes impliqués dans la synthèse des 3 types de sidérophores étaient réprimés dans la souche délétée de ryhB en milieu minimal et en urine humaine. Nous avons donc démontré pour la première fois chez une souche d'*E. coli* pathogène que les régulateurs de l'homéostasie du fer, Fur et RyhB, sont impliqués dans la production de systèmes d'acquisition du fer, la résistance au stress oxydatif et la pathogénèse dans un modèle d'infection du tractus urinaire murin.

A73

Caractérisation de la protéine UL24 du virus herpès du cercopithèque : Génération d'outils fonctionnels et perspectives d'utilisation

Nicolas Richerieux¹, Jason Desranleau¹, Anthony Griffiths² et Angela Pearson¹

¹ INRS – Institut Armand-Frappier, 531 boulevard des Prairies, H7V 1B7, Laval, QC, Canada

² Texas Biomedical Research Institute, 7620 NW Loop 410 San Antonio, TX 78227, USA

Le virus herpès du cercopithèque, ou virus B (BV), est un herpesvirus endémique et bénin chez son hôte naturel, le macaque. Par contre, BV est très pathogène pour l'Homme, provoquant des méningo-encéphalites avec un taux de mortalité de 80%. Les traitements anti-herpétiques réduisent ce chiffre à 20% mais les survivants conservent des séquelles neurologiques. La protéine UL24 du virus herpès simplex de type 1 (VHS-1), dont l'hôte naturel est l'Homme, a un rôle important dans la neurovirulence en plus de nombreuses fonctions liées à la réplication virale. In fine, nous utiliserons une stratégie d'étude comparative des protéines UL24 de ces deux virus afin de découvrir de nouvelles fonctions d'UL24 expliquant son rôle dans la pathogénèse et la neurovirulence des herpesvirus.

Pour débiter les travaux de caractérisation, plusieurs outils biologiques tels que des anticorps spécifiques de cette protéine, des vecteurs d'expression et des lignées cellulaires de singes et humaines stables pour l'expression de bv-UL24 seront générés. Des vecteurs d'expression procaryote de la protéine BV-UL24 fusionnée avec une étiquette 6xHis ont été créés en vue de purifier la protéine par affinité. Des tests d'expression sont actuellement en cours afin d'optimiser l'expression de la protéine de fusion. Celle-ci sera utilisée pour la production d'anticorps polyclonaux dirigés contre BV-UL24. L'anticorps ainsi obtenu servira à détecter les protéines exprimées en contexte d'infection. De plus, il permettra de valider deux vecteurs conçus pour l'expression en cellules de mammifères: l'un pour l'expression constitutive de bv-UL24, l'autre pour son expression inductible. Tous ces outils nous permettront d'identifier les sites de localisation cellulaire de BV-UL24 ainsi que son impact sur les structures nucléaires et cytoplasmiques. Par ailleurs, les mécanismes qui interviennent dans la fonction de BV-UL24 seront étudiés, notamment l'impact de cette protéine sur la signalisation cellulaire. Les résultats de ce projet aideront à une meilleure compréhension du rôle de BV-UL24 dans l'infection.

A74

Importance d'UL24 du virus de l'herpès simplex 1 pour la dissémination virale vers les ganglions neuronaux

Pierre-Alexandre Rochette, Amélie Bourget et Angela Pearson

INRS-Institut Armand-Frappier, Université INRS, Laval, Québec CANADA

Le virus de l'herpès simplex 1 (VHS-1) est un virus neurotrope, persistant sous forme latente dans les ganglions neuronaux suite à l'infection de cellules épithéliales des muqueuses. Le gène viral UL24 est conservé à travers la famille des Herpesviridae et a été identifié comme étant un déterminant de la neuropathogénèse chez les alphaherpesvirinae. En culture cellulaire, un virus déficient en UL24 (UL24X) produit des titres viraux 5 à 10 fois moins élevés que le virus de référence (KOS). Corrélativement, dans un modèle murin d'infection oculaire, nous retrouvons au niveau du surfactant oculaire, des titres viraux de UL24X 10 fois moins élevés que ceux de KOS suite à la réplication virale dans les cellules épithéliales de la cornée. Toutefois, nous observons une réduction jusqu'à 4log10 des titres viraux de UL24X comparé à KOS au sein du ganglion trigéminal (TG), site éventuel de l'établissement de la latence. Enfin, en absence d'UL24, moins de 30% des TG infectés mène à une réactivation de l'infection latente via une explantation de TG, comparativement à l'infection par KOS qui se réactive dans tous les cas. Notre étude a pour but d'identifier les raisons menant à la réduction drastique des titres viraux dans les TG lors de l'infection aiguë en absence d'UL24. En culture cellulaire, UL24X se réplique tout aussi efficacement dans des cellules de lignée neuronale que dans des cellules de lignée épithéliale, ce qui exclut la possibilité d'un rôle contextuel d'UL24 pour la réplication virale dans un neurone. In vivo, nous avons démontré qu'une réduction de la charge virale oculaire telle qu'observée en absence d'UL24 n'est pas suffisante pour provoquer une chute de 4log10 des titres viraux dans les TG. Par contre, un examen in situ de type immunohistofluorescence des TG a révélé qu'en absence d'UL24, seule la moitié des tissus prélevés était infectée. De plus, ceux étant infectés possédaient une quantité drastiquement réduite de neurones infectés en comparaison de TG infectés par KOS. Notre étude suggère qu'UL24 est importante pour la dissémination de l'infection vers le TG, et pour la réplication du virus dans un grand nombre de neurones. Les mécanismes moléculaires impliqués dans ces observations demeurent inconnus.

A75

Identification de protéines interagissant avec la partie C-terminale de la protéine UL24 du virus de l'herpès simplex 1

Mirana Rakotomanga et Angela Pearson

INRS- Institut Armand-Frappier, Université INRS, Laval, Québec, CANADA

Le gène viral UL24 est important pour la pathogénèse du VHS-1. En effet, lors de l'infection de fibroblastes et de cellules épithéliales en culture, un virus déficient en UL24 entraîne la formation de syncytiums et la réduction des titres viraux. La protéine UL24 se retrouve dans le noyau et dans le cytoplasme lors de l'infection. Par ailleurs, lorsqu'exprimée seule, la partie N-terminale se localise dans le noyau, tandis que la partie C-terminale se localise dans le cytoplasme. Notre hypothèse de départ est que la partie C-terminale d'UL24 interagit avec des protéines cellulaires qui interviennent dans les fonctions de la protéine dans le cytoplasme. Pour identifier ces partenaires d'interaction, on a effectué un criblage double hybride chez la levure. Pour cela, la partie C-terminale d'UL24 a été clonée dans un vecteur permettant d'exprimer une protéine de fusion entre ce domaine et le domaine de liaison à l'ADN du facteur de transcription GAL4 chez la levure. L'expression de cette protéine de fusion a été vérifiée par immunobuvardage de type Western. La souche exprimant cette fusion a par la suite été hybridée avec une souche exprimant une librairie de protéines provenant de cellules HeLa fusionnées avec le domaine d'activation du facteur GAL4. Les hybrides formés ont ensuite été étalés sur milieux sélectifs. Sur 9x107 diploïdes criblés, on a retrouvé quatre clones positifs dont les séquences correspondaient toutes, en partie ou en totalité, à la séquence codante de la forme mature de la protéine mitochondriale C1QBP. Cette dernière est une protéine multifonctionnelle principalement détectée dans la mitochondrie mais aussi dans d'autres parties du cytoplasme. Cependant, plusieurs études ont démontré que lors de l'infection par différents virus, la protéine est relocalisée au noyau, suggérant un ou plusieurs rôle(s) de la protéine dans ce compartiment. Des essais de co-immunoprécipitation et de colocalisation intracellulaire avec la protéine UL24 sont en cours afin de confirmer cette interaction en contexte d'infection.

A76

Marqueurs pronostiques de l'évolution de l'arthrite rhumatoïde

Gabrielle Sauvageau¹, Gilles Boire² et Claude Daniel¹

¹Institut national de la recherche scientifique – Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, QC, CA

²Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke, Université de Sherbrooke, QC, CA

L'arthrite rhumatoïde est une pathologie pour laquelle le traitement doit être administré durant un créneau spécifique, soit avant l'apparition d'une masse invasive de cellules immunitaires détruisant le tissu osseux, et dont les effets secondaires pour le patient et les coûts pour la société peuvent être importants. Le but de l'étude est d'identifier des facteurs immunogénétiques indépendants qui permettront de prédire individuellement la progression de la maladie, afin de mieux cibler les traitements. La compilation des caractéristiques de plus de 600 patients permettra d'établir des tendances pronostiques pour cette cohorte. Deux gènes candidats sont exprimés anormalement dans les cellules synoviales des malades, soit la cytokine IL-4 (sous-exprimé) et le récepteur CD40 (surexprimé), bien que les mécanismes sous-jacents n'ont pas encore été identifiés. Notre hypothèse est que des allèles atypiques de SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) dans les régions promotrices de ces gènes sont des marqueurs de mauvais pronostic. La méthode d'extension d'amorce spécifique d'allèle consiste à réaliser une réaction de synthèse d'ADN en incorporant des nucléotides biotinylés. L'élongation n'est possible que si l'amorce utilisée est spécifique à l'allèle présent. Les fragments synthétisés seront hybridés sur des microsphères Luminex à l'aide d'étiquettes (*tag*) d'ADN complémentaires présentes sur les billes et sur les amorces utilisées. La streptavidine-phycoérythrine sera utilisée pour évaluer qualitativement l'efficacité de la réaction d'élongation d'ADN. Le typage est établi grâce au rapport des valeurs de fluorescences obtenues pour les deux allèles. Des résultats préliminaires ont été obtenus par génotypage SSP-PCR, démontrant une association entre des allèles atypiques à 2 polymorphismes de la région promotrice de l'interleukine-4 et une maladie grave à 30 mois de suivi ($p=0,34$ et $0,36$), comparativement à un polymorphisme dans le récepteur de l'IL-4, pour lequel aucune association n'a été observée. Des études de régression linéaire entre variables multiples permettront d'établir un lien probable entre l'haplotype des SNPs et la sévérité de la maladie.

A77

Emplois, industries et risque de cancer de la prostate – résultats d'une étude cas-témoins montréalaise.

Jean-François Sauvé¹, Jérôme Lavoué^{1,2} et Marie-Élise Parent³

¹ Université de Montréal, Département de santé environnementale et santé au travail

² Centre de recherche du CHUM

³ INRS-Institut Armand-Frappier

Contexte: Le cancer de la prostate (CP) est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes québécois. L'âge, l'origine ancestrale et l'historique familial de CP forment les seuls facteurs de risques reconnus, bien que l'on soupçonne également une influence de l'environnement. Objectifs: Explorer la relation entre le titre d'emploi et d'industrie, et le risque de CP. Méthodes: L'étude PROTEuS (Prostate cancer & Environment Study) inclut 2000 cas et 2000 témoins de population, âgés de 40 à 75 ans et résidant dans la région montréalaise. L'historique professionnel des sujets a été obtenu par des entrevues. Des modèles de régression logistique ont permis d'estimer les rapports des cotes (OR) et intervalles de confiance à 95% (IC) par titre d'emploi (N=98) et de secteur industriel (N=74). Les modèles ont été ajustés pour l'âge, l'origine ancestrale, l'historique familial de CP, le dépistage du CP, le niveau d'éducation et l'activité physique. Résultats: Des risques plus élevés de CP ont été observés chez les travailleurs du domaine des sciences sociales (OR 2,0; IC95% 1,26-3,23) employés ≥ 10 ans, et chez les peintres (OR 3,0; IC95% 1,2-8,0) et les plombiers (OR 2,4; IC95% 1,1-5,4) employés < 10 ans. Des risques réduits ont été obtenus chez les agriculteurs (OR 0,5; IC95% 0,3-0,9) employés ≥ 10 ans, et chez les employés de service alimentaire (OR 0,4 IC95% 0,4-0,9) pour une durée > 10 ans. Les travailleurs du secteur public et de l'industrie forestière ont eu des risques de PC élevés. Les travailleurs de l'agriculture, de l'hôtellerie et du transport aérien étaient associés à des risques réduits. Conclusions: Nos résultats suggèrent la présence d'excès de cancer dans certains emplois de cols blancs tels la fonction publique et les sciences sociales. Les emplois des secteurs agricoles et alimentaires étaient associés à des risques réduits. Les expositions professionnelles reliées aux associations observées restent à explorer.

A78

Caractérisation des différences entre les îlots de pathogénicité 2 (SPI-2) de *Salmonella enterica* sérovar Typhi et de *Salmonella enterica* sérovar Typhimurium.

Olivier Séguin et France Daigle
Université de Montréal

Salmonella enterica sérovar Typhi, un pathogène hôte spécifique responsable de plus de 20 millions d'infections dont 200 000 mortelles annuellement, est l'agent étiologique de la fièvre typhoïde dont le modèle d'infection fut élaboré chez la souris par l'utilisation de *Salmonella enterica* sérovar Typhimurium. Selon celui-ci, l'îlot de pathogénicité 2 (SPI-2 "Salmonella pathogenicity island 2) permettrait la survie intracellulaire dans les macrophages. Cette survie serait permise par la sécrétion d'une vingtaine d'effecteurs à travers la membrane vacuolaire par un système de sécrétion de type III encodé par SPI-2 qui permettrait la modification du phagosome en SCV (*Salmonella* containing vacuole) et éviterait ainsi la liaison aux lysosomes. Une étude de Chantale Forest publiée en 2010 a par contre démontré une absence de différence significative entre la survie intracellulaire dans les macrophages humains de *S. Typhi* et de son mutant SPI-2. Afin de vérifier et d'expliquer ces résultats, nous avons procédé à la création de mutants pour différents régulateurs de SPI-2 pour par la suite procéder à des infections sur des macrophages humains afin de contre-vérifier les résultats obtenues en 2010. Nous avons également testé des conditions inhibitrices d'acidification vacuolaire, un des mécanismes connu menant à l'expression de SPI-2, par infection sur ces mêmes macrophages préalablement traités au NH₄Cl. Ces expériences ont permis de déterminer qu'aucune différence significative de survie intracellulaire dans les macrophages humains n'est observable entre la souche sauvage et ses mutants et que non seulement l'acidification vacuolaire est essentielle à la survie intracellulaire dans les macrophages, mais que la liaison au lysosome le serait également. Nous avons par la suite procédé à la vérification de l'activité du système de sécrétion de type III par Western Blot. Les résultats préliminaires permettent de démontrer que SPI-2 est tout aussi actif chez *S. Typhi* que chez *S. Typhimurium*. Ainsi, un autre mécanisme qui reste, jusqu'à ce jour, inconnu serait responsable de la survie intracellulaire dans les macrophages.

A79

Étude des mécanismes d'activation des lymphocytes B par *Leishmania donovani*

Sasha Silva-Barrios, Albert Descoteaux et Simona Stäger
INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, QC, Canada

Les parasites du genre *Leishmania* sont des protozoaires qui causent des maladies connues collectivement comme leishmaniose. Il y a trois manifestations principales de cette maladie: la leishmaniose cutanée (LC), la leishmaniose cutanéomuqueuse (LM) et la leishmaniose viscérale (LV), cette dernière étant la plus grave. La LV est causée principalement par des espèces du complexe *Leishmania donovani*. Les manifestations cliniques ne sont pas spécifiques et généralement sont évidentes par les étapes chroniques de la maladie, plus particulièrement la viscéromégalie, affectant des organes différents tels que la rate, le foie et la moelle osseuse. L'hypergammaglobulinémie est une autre caractéristique importante de la maladie et est une conséquence de l'activation polyclonale des cellules B par le parasite. Les lymphocytes B sont surtout connus pour leur rôle dans la production d'anticorps visant à faciliter l'élimination de pathogènes et d'antigènes.

Ceci nous pousse à étudier l'interaction des cellules B avec *L. donovani*. Cependant, différentes publications montrent que ces cellules peuvent également réguler les réponses adaptatives des cellules T par divers mécanismes indépendants des anticorps, tels que la production de cytokines, la co-stimulation et la présentation antigénique. Beaucoup d'études suggèrent que, selon la maladie, les cellules B peuvent à la fois améliorer ou supprimer les réponses des cellules T CD4⁺. Nous avons récemment démontré que les cellules B suppriment les réponses protectrices des cellules T au cours de la leishmaniose viscérale expérimentale, causée par le parasite protozoaire *Leishmania donovani*. Cette suppression est en partie médiée par une production d'IL-10 par les lymphocytes B, qui est MyD88-dépendante.

Notre étude vise à déterminer par quel mécanisme *L. donovani* active directement les cellules B, ce qui induit la production d'IL-10 et la régulation à la hausse des IgM et de la molécule co-stimulatrice CD86; plusieurs voies seront prises en compte: i) Les voies de signalisation des « Toll-like receptors » (TLR4, 7 et 9); ii) le récepteur des cellules B (BCR) et iii) les récepteurs du complément (surtout CD21) ainsi que iv) une combinaison des voies ci-dessus.

A80

S100A9 régule la sécrétion d'Interleukine-8 en réponse au GM-CSF et au fMLP chez le neutrophile humain

Jean-Christophe Simard¹, Philippe A. Tessier² et Denis Girard¹

¹ Laboratoire de recherche en inflammation et physiologie des granulocytes, Université du Québec, INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Québec

² Axe Maladies Infectieuses et Immunitaires, Centre de recherche du CHU de Québec, Faculté de médecine, Université Laval, Québec, Québec

S100A8 et S100A9 sont des protéines cytoplasmiques exprimées et libérées par les neutrophiles et les monocytes/macrophages lors du processus inflammatoire. Des concentrations anormalement élevées de ces protéines corrélerent avec plusieurs maladies auto-immunes comme l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn et la fibrose kystique. Nous avons récemment démontré que S100A8 et S100A9 induisent une sécrétion de cytokines inflammatoires chez les monocytes humains. Dans cette étude, nous avons examiné l'effet de S100A8 et S100A9 sur la sécrétion de cytokines et chimiokines des neutrophiles humains. De façon étonnante, un criblage des cytokines présent dans le milieu n'a révélé aucune augmentation apparente des cytokines testées suite à une stimulation avec S100A8 ou S100A9. Par contre, un prétraitement des cellules avec S100A9 a potentialisé la production d'IL-8 en réponse au GM-CSF et au fMLP. S100A9 a induit une augmentation significative du récepteur fMLP (FPR) sans toutefois affecter l'expression des deux chaînes du récepteur au GM-CSF. De plus, le prétraitement avec S100A9 induit une phosphorylation d'IKK- γ ainsi qu'une dégradation d'I κ B- α chez les neutrophiles traités avec fMLP et GM-CSF. Ces résultats supportent donc l'idée que S100A9 est un régulateur positif de la production de cytokines dans le processus inflammatoire ainsi qu'un joueur important dans le développement de la maladie auto-immunes.

A81

Le rôle de la structure de la chromatine naissante dans la réponse aux dommages à l'ADN

Antoine Simoneau et Hugo Wurtele

Centre de Recherche de l'hôpital Maisonneuve-Rosemont

Le cancer est généralement issu de mutations causées par des dommages à l'ADN mal réparés. Paradoxalement, la majorité des thérapies pour lutter contre cette maladie repose sur des agents qui induisent des dommages à l'ADN. Ainsi, la compréhension des mécanismes de réparation de l'ADN et du maintien de la stabilité génomique est cruciale à l'amélioration de l'efficacité et de la spécificité des thérapies pour lutter contre le cancer. Or, il est connu qu'une grande proportion des dommages a lieu durant la réplication de l'ADN (phase S). Au cours de cette phase, l'ADN est assemblé et enroulé autour de nucléosomes formés d'octamères d'histones nouvellement synthétisés. Ces dernières sont marquées au cours de leur assemblage par des modifications post-traductionnelles essentielles à la stabilité génomique et conservées au cours de l'évolution. Notamment, chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, l'histone H3 est acétylée sur la lysine 56 (H3K56ac) lors de son incorporation à la chromatine au cours de la phase S. La lysine 56 est par la suite rapidement déacétylée après la réplication. Cette modification est conservée chez l'humain et est surabondante dans de nombreux cancers ; elle a d'ailleurs été proposée comme marqueur tumoral. Malgré son importance, le rôle moléculaire de H3K56ac demeure nébuleux.

Le nicotinamide est un inhibiteur d'histones déacétylases NAD-dépendante réversible qui peut inhiber, entre autres, Hst3/4 qui sont les déacétylases ciblant H3K56ac. Un crible chimiogénétique à large échelle a été fait pour identifier des gènes dont la mutation engendre une sensibilité accrue à l'hyperacétylation de H3K56ac induite par le nicotinamide. Or, plusieurs mutants dont les gènes sont impliqués dans la réponse aux dommages à l'ADN ont ainsi été identifiés. En utilisant des techniques de génétique de levure, nous montrons que la mutation de facteurs impliqués dans l'échafaudage moléculaire autour des dommages à l'ADN sensibilise les cellules à une stœchiométrie anormale de H3K56ac. Cette étude nous permet de décortiquer davantage le rôle de H3K56ac en vue de l'utiliser comme cible thérapeutique dans le traitement contre le cancer.

A82

Présentation antigénique *in vitro* dans des conditions d'infection par *Leishmania donovani*

Mélina SMANS, Akil HAMAMI, Rashmi BANKOTI, Tania CHARPENTIER et Simona STÄGER.

INRS-Institut Armand-Frappier

La leishmaniose viscérale est une maladie causée par des parasites du genre *Leishmania* tels que *L. donovani* et *L. infantum/L. chagasi*. L'infection expérimentale par *L. donovani* arrive à contourner les défenses immunitaires de son hôte et d'induire une infection persistante caractérisée par l'inflammation chronique des tissus de la rate et une immunosuppression de l'hôte. Jusqu'à ce jour, l'immunothérapie a démontré que l'action des lymphocytes T CD8+ antigène-spécifiques est capable de réduire l'infection au niveau de la rate. Cela dit, pour que l'infection soit contrôlée, il est nécessaire d'avoir une forte expansion clonale des lymphocytes T CD8+ antigène-spécifiques. Hors, *L. donovani* semble capable d'interférer avec certains éléments de la défense immunitaire résultant en la limitation de l'expansion clonale des lymphocytes T CD8+ parasite-spécifiques et de leurs fonctions effectrices, permettant alors au parasite de persister dans son hôte. On soupçonne que cette limitation de l'expansion clonale est due, en partie, à l'activation de la voie de l'«Hypoxia Inducible Factor 1 alpha subunit» (HIF-1 α), constituant l'élément clé du facteur de transcription HIF. En effet, l'expression des gènes associés à cette protéine pourrait, entre autres effets, interférer dans le processus de présentation antigénique effectué par les cellules dendritiques résultant en la limitation de l'expansion clonale des lymphocytes T CD8+ parasite-spécifiques observée lors de l'infection. Dans le but de confirmer cette hypothèse, nous avons développé un système de coculture cellulaire utilisant des cellules dendritiques n'exprimant pas HIF- α , des parasites transgéniques (PINK) exprimant à leur surface l'antigène OVA et des lymphocytes T CD8+ transgéniques dont les RTC ne reconnaissent que l'antigène OVA. Par ce système, nous démontrons que l'absence de HIF-1 α ; dans les cellules dendritiques permet d'augmenter la présentation antigénique et par conséquent l'activation des cellules T CD8+.

A83

Système mélatonine: expression placentaire au cours de la grossesse et rôle dans la différenciation du trophoblaste villex

Ahmed Soliman, Andrée-Anne Lacasse, Dave Lanoix et Cathy Vaillancourt

INRS-Institut Armand-Frappier et Centre de recherche BioMed, Université du Québec, 531 boulevard des Prairies, Laval, QC, H7V 1B7, Canada.

Le rôle de la mélatonine dans le déroulement de la grossesse et le développement du fœtus a fait l'objet de plusieurs études. Cependant, la fonction de la mélatonine et de ses récepteurs dans le placenta humain reste encore peu connus. Notre laboratoire a montré que le trophoblaste villex humain, ainsi que différentes lignées cellulaires trophoblastiques, expriment les récepteurs de la mélatonine (MT1, MT2) et ses enzymes de synthèse (AANAT et HIOMT), par contre le rôle de la mélatonine et de ses récepteurs dans ces cellules demeure peu étudié. Le but de cette étude est de déterminer l'expression du système mélatonine au cours de la grossesse et son rôle dans le développement (différenciation) du trophoblaste villex. Le système mélatonine placentaire (MT1, MT2 et AANAT et HIOMT) est exprimé dans le tissu placentaire à tous les trimestres de la grossesse. L'expression maximale de AANAT et HIOMT est observée au 3^e trimestre de la grossesse. Le récepteur MT1 est significativement plus exprimé au 1^{er} trimestre par rapport au 2^e et 3^e trimestre de la grossesse tandis que l'expression de MT2 ne varie pas. Dans les primocultures de trophoblaste villex de grossesse normal à terme, on observe une augmentation de l'expression du récepteur MT1 au cours de la différenciation des cytotrophoblastes villex en syncytiotrophoblaste alors que l'expression du récepteur MT2 diminue. La mélatonine augmente la fusion du cytotrophoblaste villex en syncytiotrophoblaste ainsi que la production de l'hormone gonadotrophine chorionique (hCG) via une action médiée par les récepteurs MT1 et MT2. L'ensemble de ces résultats suggèrent un rôle paracrine et autocrine important de la mélatonine, et de ses récepteurs, dans le développement et la fonction placentaire.

A84

Susceptibilité du dendroctone du mélèze, *Dendroctonus simplex* LeConte (Curculionidae : Scolytinae) aux champignons entomopathogènes

Narin Srei¹, Robert Lavallée² et Claude Guertin¹

¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Laval (Qc), Canada, H7V 1B7

² RNCAN, Service canadien des forêts, Québec (Qc), Canada, G1V 4C7

Le dendroctone du mélèze, *Dendroctonus simplex* LeConte, est un insecte endocortical, puisqu'il s'attaque au phloème situé entre l'écorce et le bois de son hôte. Depuis des décennies, cet insecte cause d'importants dommages dans des peuplements du mélèze laricin, *Larix laricina* (Du Roi) K. Koch, en Amérique du Nord. Des efforts de recherche sont nécessaires afin de développer des stratégies de lutte basées sur l'emploi d'agents microbiens pour lutter contre ce ravageur. Parmi ces agents, plusieurs espèces de champignons appartenant à l'ordre des Hypocreales présentent un potentiel entomopathogène intéressant.

Lors de cette étude, deux objectifs principaux étaient développés, soit de maintenir la survie d'insectes par la mise au point d'une technique d'élevage des adultes de *D. simplex* en conditions de laboratoire, et de déterminer la susceptibilité de ces adultes à différents isolats de champignons entomopathogènes. Ainsi, l'évaluation de différentes conditions pour l'élevage des insectes a permis de développer une technique permettant d'assurer la survie de plus de 80% des adultes après quatre semaines d'élevage. Ce sont les insectes issus de cet élevage qui ont ensuite été soumis à un criblage de neuf isolats fongiques à une concentration de 1×10^8 conidies/ml. Ces isolats appartiennent aux espèces *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* et *Lecanicillium attenuatum*. Durant les expériences de criblage, la mortalité des insectes et la présence de la muscardine à la surface de la cuticule des insectes (symptôme d'infection) ont été notées. Dix jours après les traitements, les isolats INRS242 de *B. bassiana* et INRS704 de *M. anisopliae* sont ceux induisant la plus forte mortalité chez les adultes de *D. simplex* avec, respectivement, 64,4% et 55,7% de mortalité (Duncan; $p < 0,05$). À l'opposé, les adultes de *D. simplex* montrent une grande résistance lorsqu'ils sont exposés à l'isolat INRS1506 de *L. attenuatum* avec seulement 10,2% de mortalité. La susceptibilité des insectes aux différents isolats fongiques est discutée dans un contexte écologique et dans une optique de développement de stratégies de lutte contre les populations de ce ravageur.

A85

Exposition au stress prénatal maternel sur les fonctions endocrines placentaires humaines : impact du sexe du fœtus

Joey St-Pierre¹, Morgane Joubert¹, Suzanne King², Cathy Vaillancourt¹

¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

² Institut Universitaire de Santé Mentale Douglas, Verdun, Qc

Le stress maternel prénatal (PNMS) est connu pour altérer le développement du fœtus à court et long terme. Le PNMS est associé à une diminution placentaire de l'activité de la β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2 (β -HSD2) et du transporteur du glucose de type 1 (GLUT-1). La β -HSD2 placentaire joue un rôle protecteur pour le fœtus via la conversion du cortisol maternel en cortisone inactive et en régulant les hormones placentaires dépendante des glucocorticoïdes. Cette étude a pour but de déterminer si le placenta est le médiateur des effets du PNMS, observé sur le bébé à court et moyen terme. Nous proposons qu'un stress objectif durant la grossesse augmente le cortisol sanguin maternel et diminue l'activité et/ou l'expression de la β -HSD2 placentaire entraînant: (i) une augmentation du transfert de cortisol au fœtus qui résulte en une altération de l'axe HPA; (ii) une augmentation de la concentration de cortisol placentaire causant une diminution de l'expression des hormones régulés par les glucocorticoïdes (e.g. CRH) et des GLUTs diminuant l'index placentaire. Ces effets du PNMS sont plus importants chez les fœtus garçons comparé aux fœtus filles. Cette hypothèse sera vérifiée grâce à l'étude QF2011, qui étudie les femmes enceintes exposées aux inondations à Brisbane, en Australie, en 2011, et comporte des échantillons biologiques (placentas). Les résultats démontrent une corrélation négative de l'expression génique du gène de la β -HSD2 en fonction du résultat du stress objectif chez les femmes. Ce projet est le premier à étudier le PNMS en corrélation avec des analyses de tissus placentaires chez l'humain.

A86

Rôle des nanoparticules dans l'apoptose et le réarrangement du cytosquelette chez la lignée AML14.3D10, un modèle d'éosinophiles humains

Vallières F, Simard JC, Noel C, Girard D.

INRS-Institut Armand Frappier

Le réarrangement du cytosquelette est un mécanisme connu pour être impliqué durant les stades précoces de l'apoptose des granulocytes. Des études ont démontré que les protéines associées aux microfilaments telles que la gelsoline et la paxiline, mais pas la vinculine, étaient clivées durant l'apoptose des neutrophiles. De plus, deux protéines des filaments intermédiaires, la vimentine et la lamine B1, sont également non seulement clivées durant l'apoptose spontanée ou induite des neutrophiles, mais se retrouvent également à leur surface. Récemment, nous avons démontré que l'ezrine et la moésine, deux protéines reliées au cytosquelette, sont également clivées et exprimées à la surface des neutrophiles apoptotiques. Toutefois, le comportement du cytosquelette et de ces différentes protéines lors de la stimulation par des nanoparticules (NPs), chez les granulocytes éosinophiles, demeure inconnu. Nous nous sommes donc intéressés à caractériser le remodelage du cytosquelette en réponse à diverses NPs telles que le ZnO, le CeO₂, le TiO₂, l'Ag20 (20 nm) et l'Ag70 (70 nm) en utilisant les cellules AML 14.3D10, un modèle d'éosinophiles. D'abord nous avons étudié la capacité de ces NP à induire l'apoptose des cellules AML. L'apoptose a été évaluée par cytologie, par cytométrie en flux (marquage à l'Annexin-V-FITC) et confirmée par la dégradation de l'ADN. La cytotoxicité des différentes NPs a été évaluée par exclusion du bleu de trypan et par un essai de libération de la lactate déshydrogénase (LDH). Finalement, l'activation des caspases et le réarrangement du cytosquelette a été investigué par immunobuvardage de type Western. Les résultats démontrent que les NPs agissent de diverses façons sur les AML. Cette étude nous guidera pour effectuer des études sur des éosinophiles humains primaires isolées du sang afin de mieux comprendre le mode d'action des NPs.

A87

Le rôle de la structure homodimérique de la galectine 7 dans le cancer

Maria Vladioiu, Yves St. Pierre.

INRS-IAF

Les galectines sont des protéines multifonctionnelles appartenant à la famille des lectines. Elles sont surtout reconnues par leur capacité à lier des groupements glycosylés sur les récepteurs exprimés à la surface des cellules, induisant ainsi l'activation de signaux intracellulaires. On les retrouve aussi à l'intérieur de la cellule, notamment dans le cytosol, les mitochondries et le noyau, où elles accomplissent diverses fonctions, comme l'épissage des ARNm et la régulation de la mort cellulaire.

La famille des galectines comprend une quinzaine de membres, classés normalement selon leurs caractéristiques structurales. Tous les membres de cette famille doivent répondre à deux critères : une affinité de liaison pour les β -galactosides et une similarité de séquence dans le domaine de reconnaissance des glucides (CRD, *carbohydrate recognition domain*). Une autre particularité des galectines est leur capacité à former des dimères. La galectine-7, par exemple, est un homodimère qui peut dimériser de façon non-covalente. Cette galectine joue un rôle important dans plusieurs types de cancers, notamment dans les cancers hématologiques et le cancer du sein où elle a été associée au développement de métastases. Il est donc d'un grand intérêt d'examiner l'implication de sa structure à l'égard de ses rôles physiologiques dans le cancer.

L'objectif général de notre projet vise à explorer la perturbation de la fonction de la galectine-7 via l'utilisation d'inhibiteurs peptidiques. Pour ce faire, nous utiliserons deux stratégies: la génération des peptides issus de la chimie combinatoire et le design rationnel des peptides à l'interphase de son site de dimérisation. Les propriétés fonctionnelles des peptides seront étudiées dans des modèles cellulaires, notamment des modèles de cancers ovariens et du cancer du sein. Une attention particulière sera portée aux interactions avec les protéines de la famille Bcl-2 et à aux fonctions extracellulaires, en particulier l'apoptose des lymphocytes T. Dans cette communication, nous présenterons nos résultats préliminaires obtenus avec deux des peptides ciblant la forme dimérique de la galectine-7. À long terme, ce type d'approches permettra d'envisager le développement d'une nouvelle classe d'inhibiteurs des galectines qui pourront éventuellement être utilisés pour le traitement de diverses formes de cancer.

A88

Étude de l'ultrastructure des usines virales du TuMV : une nouvelle perspective en virologie végétale

Juan Wan¹, Jeannie Mui², Mihnea Bostina², Daniel Garcia¹, Romain Grangeon¹, Hojatollah Vali² et Jean-François Laliberté¹

¹INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Québec, Canada

²Facility for Electron Microscopy Research, McGill University, Montréal, Canada

Les virus à ARN positifs induisent un remodelage des membranes cellulaires. Ces modifications conduisent à la formation des usines virales où peut avoir lieu la réplication virale. Le virus de la mosaïque du navet (TuMV) induit la formation de deux types de structures au niveau cellulaire : une structure globulaire périmoléculaire et de petites vésicules mobiles associées au réticulum endoplasmique cortical. Cependant, très peu d'éléments sont connus à ce jour sur la morphogénèse et l'ultrastructure des usines virales du TuMV. Des observations ont été menées par microscopie électronique à transmission (TEM) sur des feuilles systémiques de plantes *Nicotiana benthamiana* infectées par le TuMV. Des corps d'inclusion (CI) cytoplasmiques ont observés en TEM sur les cellules étudiées, témoignant ainsi qu'elles étaient infectées. À des étapes précoces de l'infection virale, un remodelage membranaire a été observé, notamment la présence de réticulum endoplasmique dilaté et d'amas de membranes (convoluted membranes, CM). À des étapes intermédiaires de l'infection par le TuMV, de nombreuses vésicules denses aux électrons et quelques unes translucides ont pu être facilement distinguées autour des CM. À proximité de ces dernières, des vésicules à double-membrane denses aux électrons ont été discernées dans l'ensemble du cytoplasme, à des étapes bien plus tardives de l'infection par le TuMV. Des expériences de marquage Immuno-gold ont été menées en utilisant un anticorps monoclonal anti ARN double brin. Lors de ces dernières un marquage a été observé principalement dans les vésicules denses aux électrons et celles de petite taille. L'ensemble de ces résultats permet d'avoir une meilleure connaissance sur la manière dont le système endomembranaire est remodelé lors de l'infection par le TuMV de la plante hôte.

A89

Les voies mTORC1- et MNK1/2-dépendantes contribuent à l'activation traductionnelle des macrophages par le lipopolysaccharide d'*E. coli*

M. William, M. Jaramillo

INRS-IAF

Le contrôle traductionnel ou encore la régulation de la synthèse protéique joue un rôle important dans la réponse inflammatoire et antimicrobienne de l'hôte. Il permet une réponse rapide et efficace de l'organisme contre les agents pathogènes par l'activation de la traduction des ARNs messagers. Cette réponse peut être excessive et conduire à des complications comme le choc septique. C'est le cas du lipopolysaccharide (LPS) de la bactérie *E. coli* qui déclenche une réponse inflammatoire et antimicrobienne très puissante dans les macrophages. L'étude de l'activation des macrophages par le LPS a largement contribué à la compréhension des mécanismes moléculaires de régulation au niveau transcriptionnel. Cependant, le rôle du LPS dans l'activation traductionnelle des macrophages ainsi que les mécanismes moléculaires impliqués n'ont pas été clairement caractérisés. Nos résultats ont montré une augmentation générale de la synthèse protéique *de novo* dans une lignée de macrophages murins après stimulation par le LPS. En revanche, dans une lignée monocyttaire d'origine humaine, le LPS favorise la synthèse de certaines protéines tandis qu'il diminue la synthèse d'autres. Nous avons observé que cette régulation par le LPS a lieu au niveau de l'initiation de la traduction dans les macrophages humains et murins. Par ailleurs, nos données indiquent que le LPS active plus fortement les macrophages déficients en 4E-BP1/2, tel que suggéré par une plus grande augmentation de la production d'oxyde nitrique et d'IL-12. Les voies signalétiques «mammalian target of rapamycin complex 1» (mTORC1) et MNK1/2 sont connues pour activer l'initiation de la traduction. En utilisant des inhibiteurs spécifiques de ces voies, nous avons trouvé qu'elles sont impliquées dans l'activité microbicide des macrophages induite par le LPS. Actuellement, nous tentons d'établir la contribution de mTORC1 et MNK1/2 dans le contrôle traductionnel des macrophages par le LPS et d'identifier les ARNs messagers liés à la réponse inflammatoire et immunitaire dont la traduction est régulée par le LPS. Nos études visent à élucider les mécanismes moléculaires du contrôle traductionnel par le LPS afin d'identifier des régulateurs de la traduction qui pourraient devenir des nouvelles cibles thérapeutiques.

A90

Exposition au soleil et risque de cancer de la prostate: une étude cas-témoin à Montréal, Canada

Jennifer Yu^{1,2}, Marie-Élise Parent², Jérôme Lavoué¹

¹ *Département de Santé environnementale et santé au travail, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada*

² *Unité d'épidémiologie et de biostatistique, INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, Laval, Québec, Canada*

Objectifs: Évaluer l'association entre l'exposition récréative, professionnelle et globale au soleil, le risque de cancer de la prostate (CaP). Méthodes: Dans le contexte d'une étude cas-témoins sur le CaP menée à Montréal, Canada, des entrevues ont été complétées auprès de 1371 cas incidents de CaP diagnostiqués en 2005-2009, et 1479 témoins de la population générale. Des questionnaires détaillés ont permis d'obtenir de l'information sur la fréquence et la durée de participation à toute activité extérieure lors des loisirs durant l'âge adulte ont été obtenues, ainsi qu'une description de chaque emploi tenu au cours de la vie. Une matrice emploi-exposition canadienne a été appliquée à chaque emploi afin d'assigner un niveau d'exposition professionnelle au soleil. Des indices cumulatifs de l'exposition au soleil basés sur le nombre d'événements récréatifs, la durée d'exposition professionnelle, ainsi qu'un indice d'exposition global ont été développés. La régression logistique a été utilisée pour estimer l'association entre chaque indice d'exposition et le CaP, en ajustant pour des variables de confusion potentielles. Résultats: Globalement, il n'y avait pas d'association entre chacun des indices d'exposition et le risque de CaP. Certaines tendances en accord avec un risque légèrement plus faible chez les hommes exposés au soleil ont été observées mais les résultats n'étaient pas statistiquement significatifs et il n'y avait pas de relation dose-réponse. Conclusion: Notre étude apporte peu de soutien à l'hypothèse d'une association entre l'exposition au soleil et le risque de développer un cancer de la prostate.

A91

Découverte de deux nouveaux Iteravirus (Densovirinae) et caractérisation de leur stratégie d'expression génique

Qian Yu et Peter Tjissen

INRS- Institut Armand-Frappier

Le genre Iteravirus fait partie de la sous-famille Densovirinae et de la famille Parvovirinae. Il contient 3 densovirus : *Casphalia extranea* Densovirus (CeDENV), *Dendrolimus punctatus* Densovirus (DpDENV) et *Bombyx mori* Densovirus (BmDENV). Nous avons utilisé une technique d'amplification indépendante de la séquence (SISPA : Sequence-Independent Single-Primer Amplification) afin de détecter la présence de pathogènes dans des échantillons de larves mortes de cause inconnue. Ces larves proviennent de deux insectes additionnels : les papillons *Papilio polyxenes* et *Sibine fusca*. Le séquençage des clones obtenus combiné à une analyse BLAST nous a permis d'identifier deux nouveaux densovirus que nous avons nommés provisoirement PpDENV et SfDENV. Les deux nouveaux virus démontrent une grande identité de séquence avec les virus CeDENV et BmDENV (incluant les ITRs). De plus, l'organisation de leur génome est identique, et ils devraient donc être classifiés comme membres du genre Iteravirus. Nous avons utilisé les clones infectieux des virus PpDENV, SfDENV, CeDENV et BmDENV pour caractériser la stratégie d'expression des membres du genre Iteravirus. Nous avons utilisé la lignée cellulaire LD afin de faire des expériences de transfection avec les clones infectieux. Nous avons ensuite isolé l'ARN des cellules transfectées en plus d'échantillons de larves infectées pour PpDENV et utilisé à la méthode RACE pour identifier l'initiation et la terminaison des différents gènes. Nous avons pu déterminer que les gènes non structuraux (NS) et structuraux (VP) sont situés sur le même brin d'ADN (monosense). Les gènes NS1 et NS2 se chevauchent. Le début des transcrits de NS2 sont situés seulement 7 nucléotides après le codon d'initiation de NS1. Nous avons aussi démontré qu'il n'y a pas de chevauchement entre les gènes NS et VP. La synthèse de l'ensemble des quatre protéines structurales se fait par traduction par balayage à partir d'un seul ARNm non épissé. La transcription des VPs débute seulement 2 nucléotides après le signal poly(A) des transcrits NS. Il est intéressant de noter que le signal poly(A) des transcrits VP chevauche les codons stop des protéines VP.

A92

Mécanismes du contrôle de l'activité traductionnelle des macrophages par *Leishmania donovani*

A. Zimmermann, M. William, G. Arango Duque, A. Descoteaux, M. Jaramillo

INRS-Institut Armand Frappier

Le protozoaire *Leishmania* parasite sa cellule hôte, le macrophage, dont il contrôle l'activité afin d'échapper au système immunitaire. Nous avons démontré que *Leishmania major*, responsable de la leishmaniose cutanée, interfère avec la machinerie de traduction du macrophage en activant le répresseur traductionnel «eIF4E-binding protein 1» (4E-BP1), via sa déphosphorylation. La synthèse protéique en est alors diminuée et une partie de la réponse immunitaire ainsi supprimée. Cependant aucune étude n'a encore été investie afin de connaître l'effet de l'infection par *Leishmania donovani* (*L. donovani*), l'agent étiologique de la leishmaniose viscérale, sur la traduction. Nos données actuelles montrent une diminution de l'initiation de la traduction dans une lignée de macrophages murins par des promastigotes de *L. donovani*. Cet effet sur la traduction semble être indépendant de la voie «mammalian target of rapamycin complex 1» (mTORC1) puisque mTOR n'est pas clivée par le parasite et par conséquent 4E-BP1 n'est pas activé. Par contre, nous détectons la déphosphorylation d'eIF4E, le principal facteur de l'initiation de la traduction, chez les macrophages infectés par ces promastigotes. La régulation de l'activité d'eIF4E par ce stade du parasite expliquerait alors, au moins en partie, la diminution de la traduction observée. De plus, les promastigotes de *L. donovani* dont un facteur de virulence, le lipophosphoglycane (LPG), a été supprimé, diminuent davantage la traduction dans les macrophages. En revanche, les amastigotes de *L. donovani* semblent augmenter la synthèse protéique de leurs cellules hôtes. Ceci corrèle avec l'activation d'eIF4E ainsi que de la voie mTORC1 dans son intégralité. Ces résultats montrent que *L. donovani* exerce une régulation différentielle de l'activité traductionnelle du macrophage selon son stade de cycle de vie. Nous voulons maintenant établir l'importance biologique de ces événements. Pour cela nous allons caractériser les ARNm associés à la réponse immunitaire dont la traduction est régulée par *L. donovani* ainsi que les composants du parasite impliqués dans cette modulation. Cette étude permettra d'appréhender les mécanismes moléculaires du contrôle traductionnel mis en jeu lors d'une infection à *L. donovani*.

Index des auteurs

A	Abdel-Mawgoud, A.M.	32	Abidin, B.M.	37	Adam, C.	50	Agbeci, M.	37	Alvarez de Celis, H.	62	Antoine, F.	50, 78	Aram, R.	51	Arango Duque, G.	49, 89
B	Babin, K.	51	Bankoti, R.	84	Bateman, M.	54	Beauchamp, S.	59	Beaulieu, S.	30	Bélangier, B.	52	Belkacemi, A.	35, 58	Ben Abdeljelil, N.	63
	Bernier, D.	40	Bernier, J.	40, 69	Bertrand, L.	44	Bibens laulan, N.	48	Blais, M.	75	Blais, M.-A.	52	Blanchet, M.	48, 53, 68	Blanc-Lapierre, A.	34
	Boire, G.	81	Boisvert, M.	38	Bostina, M.	87	Bourget, A.	47, 80	Braut, G.	53	Brisson, É.	38	Brousseau, P.	75	Budzinski, H.	65, 75
	Burt, D.S.	52	Busby, M.	33	C		Caldwell, S.	77	Carletti, H.	41	Caron-Beaudoin, É.	33	Castonguay, A.	54	Caza, M.	61, 79
	Chan, P.	51	Chapalain, A.	67	Charbonneau, M.	71	Charest, L.-A.	61	Charles, K.	55	Charpentier, T.	44, 63, 84	Chatenet, D.	66	Chica, R.	42
	Chouinard-Pelletier, C.	61	Clabault, H.	55	Cloutier, A.	43, 71	Cockenpot, L.	56	Cocquebert, M.	60	Constant, P.	76, 78	Couture, J.-F.	42	Cyoia, P.S.	64
	Cyr, D.G.	50, 51, 70	D		Daigle, F.	82	Daniel, C.	52, 81	Dao, L.	46	Daudelin, J.-F.	30	Daugan, M.	39	Davey, J.	42
	de Liz, R.	45	Degroote, S.	36	Déziel, E.	31, 32, 36, 40, 41, 56, 57, 67, 73, 74	Dianati, E.	46	Djiokeng, G.	58	Doche, S.	65	Doggui, S.	46, 58	Dorner, S.	52
	Doucet, C.	54	Doucet, N.	40, 41, 53, 59, 61, 73	Dozois, C.	55, 61	Dozois, C.M.	64, 79	Draz, H.	58	Dridi, S.	59	Duguay, C.	48	Dulcey, C.E.	40
	Dumais, J.-P.	67	Duplay, P.	39, 62, 67, 68	Durand, A.-A.	57	Durocher, I.	57	E		Egesborg, P.	41, 59	F		Fagundes, L.	60
	Fahmy, A.M.	48	Fauvelle, D.-A.	38	Faye, B.	60	Figeys, D.	42	Folch, B.	41	Fortier, M.	64, 65, 75	Fournier, A.	66	Fournier, M.	64, 65, 74, 75
	Fraser, M.	43	Fukuda, M.	49	G		Gaboury, L.A.	34, 59	Gagné, D.	59, 61	García Cabanillas, D.	37, 54, 87	Garénaux, A.	61	Girard, D.	45, 50, 51, 57, 62, 72, 78, 83, 86
	Gómez, C.P.	62	Gonçalves, D.	62	Gonçalves, D.M.	45	Gonçalves, M.C.	64	Gonzalez, C.	63	Gougéard, A.	65	Grangeon, R.	37, 87	Griffiths, A.	79
	Groleau, M.-C.	40, 67	Grosset, A.-A.	34, 59	Guertin, C.	57, 85	H		Habib, R.	79	Hales, B.	46	Hamami, A.	44, 63, 84	Heinonen, K.M.	37, 65
	Houle, S.	55, 61, 64, 79	Huot, A.-C.	60	Hutter, E.	54	I		DeGuise, S.	64	Dekimpe, V.	40	Deschamps, G.	52	Descoteaux, A.	49, 62, 82, 89
	Desforges, M.	38, 69, 77	Desfossés-Baron, K.	56	Desranleau, J.	79	Jacomy, H.	38	Jaramillo, M.	87, 89	Jean-Pierre, F.	36	Jiang, J.	37, 54	Johnson, B.	40
	Joubert, M.	85	Juhas, M.	54	J		King, S.	85	Kleinert, C.	64	Kobayashi, R.K.T.	64	Koga, V.L.	64	Kolasa, E.	32
	K		Kostenko, M.	44	L		Labonté, P.	48, 53, 68, 75	Labrecque, N.	30	Lacasse, A.-A.	84	Lacaze, E.	65, 75	Lafond, J.	43
	Lahmidi, S.	68	Laliberté, J.-F.	37, 54, 87	Lalonde, I.	78	Lamarre, A.	30, 39, 44	Lamine, A.	66	Langelier, Y.	44	Lanoix, D.	60, 84	Lanouette, S.	42
	Laroche-Lefebvre, C.	67	Lau, S.	66	Lavallée, R.	85	Lavoué, J.	81, 88	Le Coupanec, A.	69	Le Guillouzer, S.	67	Lebel, M.-È.	30	Leclerc, D.	30
	Lee, W.	77	Lefevre, P.	46	Légaré, F.	30	Leonardi, L.B.A.	45	Lépine, F.	40, 53, 73, 79	Létourneau, M.	66	Li, C.-J.	54	Lim, D.	69
	M		Mandon, M.	70	Martineau, C.	35, 45, 70	Mauffrey, F.	35, 45, 70	Mayer, T.Z.	71	Maysinger, D.	54	Mazzelier, P.	75	McDonald, P.P.	71
	Mercier, N.	71	Mergler, D.	43	Milot, S.	40	Miro, J.	66	Mongrain, R.	66	Moore, M.	54	Mournier, M.	64	Mui, J.	87
	N		Naghdi, M.R.	72	Nakazato, G.	64	Nguyen, T.T.	73	Nicastro, G.G.	73	Nickzad, A.	31				

Noël, C.	57, 72, 86	Robaire, B.	46	Thiré, N.	30
		Robidoux, P.Y.	74	Tijssen, P.	38, 88
		Robitaille, C.N.	47	Traboulsi, H.	43
O		Rochette, A.	60	Tung, E.	46
Olishevskaja, S.	74	Rochette, P.-A.	59, 80	Turco, J.T.	49
Omouri, Z.	74	Russell, D.G.	77		
Ouellet Lavallée, G.	47			V	
Owusu Kwarteng, E.	65			Vaillancourt, C.	43, 55, 60, 84, 85
		S		Vali, H.	87
		Sanabria-Solano, C.	44	Vallières, F.	86
P		Sanderson, T.	33, 47, 55, 58	Vaudry, D.	66
Parent, M.-E.	34, 81, 88	Sauvageau, G.	81	Vazquez, K.	45, 52
Patarroyo, C.	54	Sauvé, J.-F.	64	Vespero, E.C.	64
Payette, G.	35	Scandorieiro, S.	81	Viau, M.	43
Payment, P.	52	Schmidt, B.	30	Villemur, R.	35, 45, 52, 70, 73
Pearson, A.	44, 47, 59, 60, 63, 68, 79, 80	Sébire, G.	36	Villeneuve, C.	45, 70
Pédelucq, J.	65, 75	Séguin, M.	36, 67	Vladoiu, M.	86
Perks, A.	75	Séguin, O.	82	Vladoiu, M.-C.	34
Perreault, J.	36, 72	Shareck, F.	53	Volpato, J.	41
Pham, T.T.M.	76	Silva-Barrios, S.	82	Vozzi, C.	30
Piché-Choquette, S.	76	Simard, F.A.	71		
Pinard, M.M.	77	Simard, J.-C.	72, 78, 83, 86	W	
Plante, I.	32, 33, 46, 71	Simoneau, A.	83	Wade, M.	46
Plante, M.	52	Smans, M.	63, 84	Wan, J.	37, 54, 87
Podinovskaya, M.	77	Soliman, A.	84	William, M.	87, 89
Poirier, M.	78	Song, L.	31	Wurtele, H.	56, 83
Porcheron, G.	79	Srei, N.	85		
		Stäger, S.	44, 63, 82, 84	Y	
		St-Pierre, J.	43, 85	Yahia, L'H.	66
Q		St-Pierre, Y.	34, 48, 59, 86	Yousefi, M.	39, 68
Quiza, L.	78	Sureau, C.	53	Yu, J.	88
Quoc Le, T.	68	Surette, C.	43	Yu, Q.	88
		Sylvestre, M.	31, 76		
		T		Z	
R		Takser, L.	36	Zheng, H.	37, 54
Rahme, L.G.	40	Talbot, P.J.	38, 69, 77	Zimmermann, A.	89
Rakotomanga, M.	80	Tarrab, E.	44		
Ramassamy, C.	35, 46, 58	Tessier, P.A.	83		
Rault, P.	75	Thi, N.N.	73		
Richerieux, N.	79				
Richter, M.	43				
Rigden, M.	46				

