



Congrès Armand-Frappier

Une initiative des étudiants-chercheur de l'INRS - Institut Armand-Frappier

Château Bromont, Estrie
Du 5 au 7 novembre 2009

Cancérologie

**Reproduction
&
Développement**

Virologie

**Congrès
Multidisciplinaire
2ième
&
3ième cycles**

Microbiologie

**Toxicologie
&
Pharmacochimie**

Immunologie

<http://www.iaf.inrs.ca/congres/>

charles river



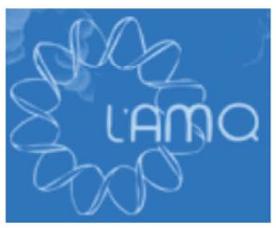
Boehringer Ingelheim

INRS **AEIAF**
Institut Armand-Frappier



Développement économique, Innovation et Exportation
Québec

Éducation, Loisir et Sport
Québec

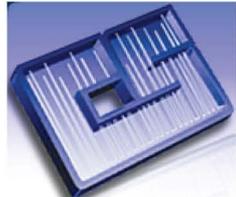


FONDATION ARMAND-FRAPPIER
Pour l'avancement de la recherche en santé



L'Association des Microbiologistes du Québec

SARSTEDT



CHROMATOGRAPHIC SPECIALITIES



IRSC CIHR
Instituts de recherche en santé du Canada Canadian Institutes of Health Research

SIGMA-ALDRICH



Centre interinstitutionnel de recherche en écotoxicologie

SOLUTIONSMEDIA.CA
IMPRESSION GRAND FORMAT - ENSEIGNE - PRÉSENTOIRE - IMPRIMERIE
514.928.1121 info@solutionsmedia.ca

INRS
Université d'avant-garde

CQIB
Centre québécois d'innovation en biotechnologie

MILLIPORE

AstraZeneca

FÉDÉRATION DES ÉTUDIANTS DE L'INRS

gsk
GlaxoSmithKline

AXCAN PHARMA

Finances Québec

MJS BioLynx INC.

Table des matières

Membres du comité organisateur.....	2
Mot du comité organisateur	3
Mot du directeur de l'INRS-Institut Armand-Frappier	4
Mot du directeur général de l'INRS	5
Remerciements	6
Programme abrégé du Congrès Armand-Frappier 2009	7
Programme détaillé du Congrès Armand-Frappier 2009	8
Informations générales	13
Directives pour les présentations par affiches	13
Résumés des présentations orales.....	14
Session 1 : Immunologie	15
Session 2 : Microbiologie	18
Session 3 : Virologie	21
Session 4 : Biologie cellulaire et moléculaire	24
Session 5 : Toxicologie et Pharmacochimie	27
Résumés des affiches.....	30
Session 1 : Immunologie	31
Session 2 : Microbiologie	38
Session 3 : Virologie	42
Session 4 : Biologie cellulaire et moléculaire	52
Session 5 : Toxicologie et Pharmacochimie	59
Partenaires financiers du Congrès Armand-Frappier 2009	63
Index des auteurs.....	79

Membres du comité organisateur

Audrey Bruneau

Présidente



Kathy Deroy

Vice-présidente



Sandra Pittet

Trésorière



David Gonçalves

Directeur des affaires publiques



Julien Tremblay

Directeur des communications



Patricia Rivest

Directrice des affaires internes



Thérèse Choisi

Directrice de la logistique

Mot du comité organisateur

Chers (ères) congressistes,

C'est avec grand plaisir que le comité organisateur du Congrès Armand-Frappier 2009 vous souhaite la bienvenue à sa 6^{ième} édition ! Cette année encore, étudiants-chercheurs, stagiaires post-doctoraux, professeurs et professionnels de laboratoire, de différentes universités et centres de recherches, sont réunis en grand nombre. Votre participation nous confirme, une fois de plus, l'intérêt marqué de l'ensemble des scientifiques pour cet évènement francophone majeur.

Depuis ses débuts, le Congrès Armand-Frappier représente une plateforme permettant le partage des connaissances et la formation de réseaux au sein de la communauté scientifique québécoise. C'est grâce à des évènements tel que celui-ci, que la notion d'échange de savoirs prend tout son sens. En effet, la multidisciplinarité qui y est prônée favorise la communication entre les scientifiques de différents domaines, ce qui fait du Congrès Armand-Frappier, un évènement d'échanges où les occasions de créer des liens entre les membres de laboratoires de différentes disciplines sont nombreuses. Ainsi, le Congrès Armand-Frappier représente également une excellente opportunité, pour les étudiants gradués, de se faire valoir et créer de nouveaux contacts pour leurs futures carrières.

À chaque édition, le Congrès Armand-Frappier tente d'élargir ses horizons. Lors de la 5^e édition, la participation marquée des étudiants de l'Université de Moncton, qui nous font l'honneur de participer à nouveau cette année, a donné une dimension nationale au Congrès Armand-Frappier. Afin d'accroître cette ouverture sur le monde scientifique, le comité organisateur 2009 a le plaisir de vous présenter quatre conférenciers de renom, dont deux conférenciers canadiens et deux conférenciers français. Cette innovation donne donc une dimension internationale au congrès qui, nous le souhaitons, sera perpétuée dans le futur. Désormais, le Congrès Armand-Frappier est un évènement promulguant l'échange de connaissance outre-Atlantique et valorisant les recherches menées par les différents laboratoires à travers la francophonie.

Le comité organisateur tient à remercier toutes les personnes ayant participé à la réalisation de cet évènement ainsi que toutes les équipes de recherche présentes. Nous aimerions aussi profiter de cette occasion pour remercier l'ensemble des professeurs qui permettent aux étudiants de 2^e et 3^e cycle de présenter leurs travaux. Enfin, nous remercions particulièrement l'Institut Armand-Frappier et la Fondation Armand-Frappier qui sont des partenaires clés depuis la création du congrès.

Nous vous souhaitons un très bon congrès, rempli de rencontres et de discussions.

Le comité organisateur de l'édition 2009 du Congrès Armand-Frappier

Mot du directeur de l'INRS-Institut Armand-Frappier

Chers Collègues Professeurs et Étudiants,

C'est avec grand plaisir que je me joins aux organisateurs de la rencontre pour vous souhaiter la bienvenue à cette 6^e édition du Congrès Armand-Frappier. Plusieurs étudiants de notre centre se sont impliqués intensément dans la mise sur pied de cette dernière édition et je leur apporte bien sûr mon support pour que cet événement soit couronné de succès.

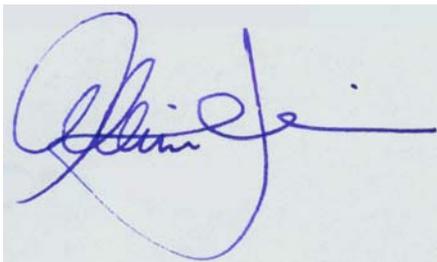
Depuis sa toute première édition en 1999, ce congrès constitue une occasion unique de rassembler étudiants et chercheurs, non seulement de l'INRS – Institut Armand-Frappier mais également d'autres institutions universitaires, afin d'échanger sur des objectifs de recherche qui sont pour tous ces scientifiques leurs défis au quotidien. D'ailleurs, les thèmes abordés dans le cadre du congrès font partie des sujets de l'heure et ils démontrent l'écoute de nos chercheurs par rapport aux préoccupations de la population.

Ainsi, les travaux qui seront présentés au cours des prochains jours s'inscrivent dans les grands enjeux auxquels est confrontée la société d'aujourd'hui et ils s'intègrent remarquablement dans la mission de l'INRS. Santé des populations et des écosystèmes, innocuité de l'eau et des produits alimentaires, prévention, stratégies thérapeutiques et méthodes diagnostiques ne sont là que quelques exemples des thématiques de recherche abordées.

En 2007, c'est environ 200 participants provenant de plusieurs institutions de recherche qui ont eu la chance d'échanger sur ces sujets et qui ont été à même de bénéficier du savoir de tous et chacun. Qui plus est, l'excellence des éditions précédentes est assurément garante du succès de celle de cette année et nous sommes confiants que le congrès contribuera à stimuler la recherche universitaire. Il ne fait donc aucun doute que cette 6^e édition sera encore plus enrichissante en ce sens.

Je profite de cette occasion pour féliciter et remercier tous ceux et celles qui ont su par leur travail, leur implication et leur détermination, faire en sorte que cet événement soit dès aujourd'hui assuré d'un succès.

Je vous souhaite donc un excellent congrès tout autant qu'un séjour des plus agréables en Estrie.



Dr Alain Fournier, Ph.D.
Le directeur de l'INRS – Institut Armand-Frappier

Mot du directeur général de l'INRS

C'est avec plaisir que je m'associe, en tant que directeur général de l'INRS, à cette 6^e édition du congrès Armand-Frappier, une initiative remarquable mise de l'avant par des étudiants-chercheurs de cycles supérieurs en biosciences de l'INRS il y a maintenant dix ans. Cette rencontre biennale remporte toujours un vif succès et confirme le dynamisme de la relève scientifique dans le domaine de la santé.

Je tiens à souligner la qualité du programme élaboré par les étudiants du Centre INRS–Institut Armand-Frappier, programme qui a le mérite de réunir des conférenciers de renom et de jeunes scientifiques qui ont accepté de partager leur passion pour la recherche dans le domaine des sciences biologiques. Savoir communiquer ses résultats de recherche se révèle une expérience exigeante mais combien valorisante pour les jeunes scientifiques. Parler, expliquer et illustrer la science, c'est la rendre accessible et sensibiliser la population à l'importance et à la pertinence de la recherche. Une telle approche, privilégiée par l'INRS, favorise un meilleur dialogue entre les chercheurs et la société et contribue à la promotion de la culture scientifique.

Je félicite le comité organisateur pour son implication et sa volonté d'ouvrir cette rencontre à de jeunes scientifiques hors-Québec. Lieu privilégié d'échanges et de discussions, le Congrès Armand-Frappier a l'avantage de favoriser collaborations et complicités entre des chercheurs provenant de diverses disciplines liées aux biosciences. Je remercie également tous les conférenciers et tous les commanditaires qui, par leur présence et leur soutien, ont rendu possible cet événement de communication scientifique.

Bon succès!

Daniel Coderre, Ph. D.
Directeur général de l'INRS

Le comité organisateur voudrait remercier toutes les personnes ayant contribué à ce projet. Parmi celles-ci :

Évaluateurs des présentations orales

Dre Cathy Vaillancourt
Dre Pascale Duplay
Dr Charles Dozois
Dr Mathieu Cellier

Évaluateurs des résumés (l'oral)

Dr Jean-François Laliberté
Dr Richard Villemur
Dr Patrick J. Devine
Dr Claude Guertin
Dr Denis Girard

Évaluateurs des affiches

Mme Marie-Christine Groleau
Mme Silvia Cristina Santos
Mme Guylaine Lassonde
Mme Sandra Fernandes
M Dominique Favreau
Mme Isabelle Meunier
Mme Jamila Ennaciri
Mme Valérie Janelle
Mme Mariam El-Zeil
Mme Jihane Gasmi
M Sébastien Bigras
M Marc Desforges
M Dave Lanoix
M Gilles Besin

Modérateur

Dr Michel Charbonneau

Ainsi que tous nos partenaires financiers regroupés à la fin de ce document

Votre support et votre soutien ont été essentiels à la bonne réalisation de ce projet,
Merci !

Programme du Congrès Armand-Frappier 2009

	Jeudi 5 novembre	Vendredi 6 novembre	Samedi 7 novembre
Déjeuner		6h30 - 8h15	6h30 - 9h15
A.M.		<p>Session II - Microbiologie</p> <p>Présentations orales 8h30 à 10h20</p> <p>Pause café 10h20 à 10h50</p> <p>Session III - Virologie</p> <p>Conférence Gary Kobinger, Ph.D 10h50 à 11h50</p>	<p>Session V - Toxicologie & Pharmacochimie</p> <p>Présentations orales 9h30 à 11h20</p> <p>Pause café 11h20 à 11h45</p> <p>Conférence Jean-François Narbonne, Ph.D Hélène Budzinski, Ph.D 11h15 à 12h45</p>
Dîner		12h00 à 13h15	12h45 à 14h15
P.M.	<p>Arrivée/Inscription 12h00 à 13h00</p> <p>Cocktail 13h00 à 13h30</p> <p>Allocution de l'AMQ 14h00 à 14h20</p> <p>Session I - Immunologie</p> <p>Présentations orales 14h30 à 16h20</p> <p>Pause café 16h20 à 16h50</p> <p>Conférence Marek Rola-Pleszcynski, M.D. 16h50 à 17h50</p>	<p>Présentations orales 13h30 à 15h20</p> <p>Pause café 15h20 à 15h50</p> <p>Session IV - Biologie cellulaire & moléculaire</p> <p>Présentations orales 15h50 à 17h40</p> <p>Session II - Affiches Cocktail 17h40 à 19h40</p>	<p>Cérémonie de la remise de prix 14h15 à 15h00</p> <p>Mot de la fin 15h00 à 15h10</p>
Souper	À partir de 18h30 *	19h40 à 21h40	
Soirée	Session I - Affiches 19h à 21h	Soirée dansante 22h	

Jeudi le 5 novembre 2009

12 : 00 – 13 : 00	Arrivée / Inscription	Hall de l'hôtel
13 : 00 – 13 : 30	Cocktail de bienvenue	Salons ABC
13 : 30 – 14 : 00	Allocution de bienvenue	Salons ABC
14 : 00 – 14 : 20	Allocution de l'AMQ	Salons ABC
14 : 30 – 16 : 20	Présentations orales session I : « Immunologie »	Salons ABC
O1.1	Les promastigotes de <i>Leishmania</i> induisent la formation de «NETS» chez le neutrophile humain Christelle Gabriel / INRS-Institut Armand-Frappier	
O1.2	L'expression des protéines Dok-1 et Dok-2 influence le développement des lymphocytes T. Gilles Besin / INRS-Institut Armand-Frappier	
O1.3	Stimulation non spécifique du système immunitaire par le vaccin BCG (Bacille Calmette-Guérin) et survenue d'asthme infantile Mariam El-Zein / INRS-Institut Armand-Frappier	
O1.4	Initiation du rejet de greffe en absence d'organes lymphoïdes secondaires Caroline Leduc / INRS-Institut Armand-Frappier	
O1.5	Un variant du coronavirus respiratoire humain OC43 possédant des mutations de sa protéines S acquises en persistance active la unfolded protein response chez le neurone humain. Dominique J. Favreau / INRS-Institut Armand-Frappier	
16 : 20 – 16 : 50	Pause-café	Salons ABC
16 : 50 – 17 : 50	Conférence Dre Marek Rola-Pleszczynski / Titulaire de la chaire de recherche du Canada en inflammation « Médiateurs lipidiques et réponse immune»	Salons ABC
18 : 30 – 21 : 00	Cocktail Dinatoire	Salle Knowlton
19 : 00 – 21 : 00	Présentations par affiche (numéros pairs)	Salle Knowlton

Vendredi le 6 novembre 2009

6 : 30 – 8 : 15	Déjeuner	Salle à manger
8 : 30 – 10 : 20	Présentations orales session II : « Microbiologie » commanditée par l'AMQ	Salons ABC
O2.1	Impact de la capsule polysaccharidique sur les interactions bactéries-cellules dendritiques Paul Lemire / Université de Montréal	
O2.2	Contamination microbiologique de spas publics au Québec Nicholas Brousseau / Université Laval	
O2.3	Régulation de la production des 4-hydroxy-3-méthyl-2-alkylquinolines (HMAQ) chez <i>Burkholderia thailandensis</i> Jean-Philippe Dumais / INRS-Institut Armand-Frappier	
O2.4	Les microvésicules chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : un taxi pour le quorum sensing? Geneviève Raoult / INRS-Institut Armand-Frappier	
O2.5	Identification des sources de pollution fécale dans les eaux de surface par détection de l'ADN mitochondrial comme marqueur spécifique d'espèce. Marianne Imbeau / INRS-Institut Armand-Frappier	
10 : 20 – 10 : 50	Pause-Café offerte par Charles River	Salons ABC
10 : 50 – 11 : 50	Conférence Dr Gary P. Kobinger / Professeur auxiliaire, Département de microbiologie médicale « Virus Émergents et Re-émergents : Prévention, Détection, Contrôle et Traitement »	Salons ABC
12 : 00 – 13 : 15	Dîner	Salle à manger

Vendredi le 6 novembre 2009 (suite)

13 : 30 – 15 : 20	Présentations orales session III : « Virologie » commanditée par Boehringer Ingelheim	Salons ABC
O3.1	Caractérisation du potentiel oncolytique de mutants du virus de la stomatite vésiculaire. Valérie Janelle / INRS-Institut Armand-Frappier	
O3.2	La protéine NS1 du virus influenza retarde l'induction d'une réponse immunitaire innée. Isabelle Meunier / INRS-Institut Armand-Frappier	
O3.3	Identification des déterminants génomiques du tropisme du parvovirus porcin. Sandra Fernandes / INRS-Institut Armand-Frappier	
O3.4	Caractérisation du complexe de réplication du virus de la mosaïque du navet (TuMV) Romain Grangeon / INRS-Institut Armand-Frappier	
O3.5	Caractérisation des signaux de localisation nucléaire et nucléolaire de la protéine REV du virus de l'immunodéficience bovine, un virus apparenté au virus du SIDA. Andrea Gomez / Université du Québec à Montréal	
15 : 20 – 15 : 50	Pause-Café offerte par Charles River	Salons ABC
15: 50 – 17 : 40	Présentations orales session IV « Biologie cellulaire et moléculaire »	Salons ABC
O4.1	Identification d'un nouveau partenaire d'interaction de la MT1-MMP intracellulaire. Nancy Berger-Thibault / Université du Québec à Montréal	
O4.2	Rôle protecteur de la mélatonine placentaire dans la grossesse normale Dave Lanoix / INRS-Institut Armand-Frappier	
O4.3	Étude de la régulation de l'expression de Pax-5 dans le cancer du sein : Implication des récepteurs d'œstrogène ER α et ER β Mame Daro Faye / Université de Moncton	
O4.4	Le CNTF augmente la sensibilité au froid en conditions non inflammatoires et diminue la sensibilité au chaud en conditions inflammatoires. Marie-Claude Letellier / Université de Montréal	
O4.5	Pax-5B : Un oncogène puissant qui régule le destin cellulaire B Mélanie Bédard / Université de Moncton	

Vendredi le 6 novembre 2009 (suite)

17 : 40 – 19 : 40	Présentations par affiche (numéros impairs) Cocktail	Salle Knowlton
20 : 00 – 22 : 00	Souper-Banquet	Salons ABC
	Remise des Bourses Boehringer Ingelheim (meilleures présentations par affiche et à l'oral de la session virologie)	
22 : 00	Soirée dansante	Salons ABC

Samedi le 7 novembre 2009

6 : 30 – 9 : 15	Déjeuner	Salle à manger
9 : 15 – 11 : 05	Présentations orales session V : « Toxicologie et pharmacochimie »	Salons ABC
O5.1	Cartographier les dommages à l'ADN à l'échelle d'un génome Frédéric Leduc / Université de Sherbrooke	
O5.2	Exposition professionnelle au plomb et risque de cancer du poumon Willy Wynant / Université de Montréal	
O5.3	Évaluation de la toxicité pulmonaire des vapeurs d'éthanol dans un modèle animal d'asthme allergique Andrea Scarino / INRS-Institut Armand-Frappier	
O5.4	Statut immunitaire du ouaouaron (<i>Rana Catesbeiana</i>) exposé à des pesticides d'origine agricole Sophie Dussault / INRS-Institut Armand-Frappier	
O5.5	Évaluation spatio-temporelle des concentrations en métaux lourds dans les moules bleues (<i>Mytilus Edulis</i>) de la Baie des Chaleurs, Nouveaux-Brunswick Marc Fraser / Université de Moncton	
11 : 05 – 11 : 30	Pause-café	Salons ABC
11 : 30 – 13 : 00	Conférence-Débat Dr. Jean-François Narbonne et Dre. Hélène Budzinski «Surveillance biologiques des milieux aquatiques : Indices biocénétiques, biomarqueurs et bioessais» «Approches analytiques pour l'évaluation des perturbations aquatiques» Modérateur : Dr Michel Charbonneau (INRS –Institut Armand-Frappier)	Salons ABC
13 : 00 – 14 : 15	Dîner	Salle à manger
14 : 15 – 15 : 00	Cérémonie de remise des prix 3 prix pour les présentations par affiche 3 prix pour les présentations orales 1^{er} prix oral : gracieusement offert par le Réseau de recherche en santé environnementale (RRSE)	Salons ABC
15 : 00 – 15 : 10	Mot de clôture	Salons ABC

Informations générales

Les bourses pour les meilleures présentations orales et par affiches seront décernées lors de la clôture de l'événement, samedi le 7 novembre.

Les récipiendaires des prix doivent être présents afin recevoir les bourses qui leur seront attribuées.



La compagnie Boehringer Ingelheim décernera également deux bourses pour la meilleure présentation orale et par affiche de la session de virologie, lors du banquet vendredi le 6 novembre



Les chambres doivent être libérées avant 11:00, samedi le 7 novembre

* En cas de besoin l'hôtel fournira un lieu d'entreposage.

Directives pour les présentations par affiches

Les affiches au numéro **pair** seront présentées le **jeudi**, de 19:00 à 21:00.

Les affiches au numéro **impair** seront présentées le **vendredi**, de 17:40 à 19:40.

Vous devez être présent devant votre affiche pour toute la durée de la session.

Chaque affiche sera évaluée par 2 évaluateurs.

La présentation de votre affiche doit être d'une **durée maximale de 5 minutes**.

Les affiches doivent être installées jeudi le 5 novembre, avant 16:00, et doivent être retirées vendredi le 6 novembre, avant **20:00**

Présentations orales

Session I : Immunologie

O1.1

LES PROMASTIGOTES DE LEISHMANIA INDUISENT LA FORMATION DE « NETS » CHEZ LE NEUTROPHILE HUMAIN.

^{1,2}Christelle Gabriel, ¹Denis Girard, ³Robert W McMaster, ^{1,2}Albert Descoteaux

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC

²Centre de recherche sur les interactions hôte-parasite,

³Université de Colombie Britannique, Vancouver, CB

Leishmania est un parasite intracellulaire obligatoire responsable de la leishmaniose. Cet organisme biphasique est inoculé sous sa forme promastigote chez l'hôte mammifère par la mouche des sables. Bien que le macrophage soit sa cellule hôte principale, la première cellule immunitaire avec laquelle *Leishmania* est en interaction est le neutrophile. Actuellement, il n'y a pas de consensus sur le rôle joué par le neutrophile dans l'infection par *Leishmania*. En effet, certaines études le décrivent comme un facteur indispensable à l'élimination du parasite et d'autres suggèrent qu'il contribue à l'établissement de l'infection: *Leishmania* serait phagocyté par le neutrophile et y survivrait jusqu'à l'arrivée des macrophages qui internaliseraient ainsi un neutrophile apoptotique infecté. L'objectif de cette étude est de mieux comprendre le rôle des neutrophiles durant une infection par *Leishmania*. Dans ce but, nous avons incubé des neutrophiles humains en présence de promastigotes et effectué des analyses par microscopie confocale. Nous avons observé qu'au contact du parasite, les neutrophiles relarguent leur ADN pour former des « Neutrophils Extracellular Traps » (NETs). Les NETs, sont des structures très filamenteuses principalement constituées d'ADN et capables de piéger ainsi que d'éliminer certains microorganismes de manière extracellulaire. Nos résultats de microscopie confocale ainsi que de quantification de l'ADN relargué montrent que *Leishmania* induit précocement la formation de NETs de manière ratio-dépendante et indépendamment de l'espèce ou de la souche utilisée. Les filaments ainsi formés capturent les promastigotes qui s'y retrouvent piégés. L'utilisation de mutants déficients en lipophosphoglycan (LPG) ainsi qu'en gp63 (deux importants facteurs de virulence du parasite), a permis de montrer qu'aucune de ces molécules n'est impliquée dans cette induction. Cependant, nos résultats suggèrent que le LPG protège le promastigote de *Leishmania* de l'activité microbicide des NETs.

O1.2

L'EXPRESSION DES PROTÉINES DOK-1 ET DOK-2 INFLUENCE LE DÉVELOPPEMENT DES LYMPHOCYTES T.

Besin Gilles, Saba Ingrid & Duplay Pascale.

INRS Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

De la famille Dok, seuls deux membres, Dok-1 et Dok-2, sont exprimés dans les lymphocytes T. Plusieurs études ont démontré que les protéines Dok agissent comme régulateur négatif de la signalisation chez les lymphocytes T. Afin de clarifier le rôle des protéines Dok dans le développement des lymphocytes T, nous avons généré des souris transgéniques surexprimant la protéine Dok-1. Chez ces souris, la surexpression de la protéine Dok-1 entraîne une réduction de la cellularité thymique due à un bloc partiel au stade thymique DN3. Pour les lymphocytes T ayant passé ce stade de développement thymique, les processus de sélection thymique entraînent une accumulation de thymocytes CD8+ non conventionnels. Ceux-ci expriment des niveaux élevés pour les molécules CD44 et CD122 et secrètent de l'IFN gamma lorsqu'ils sont activés ex vivo. Ce développement de lymphocytes T CD8+ est similaire à celui observé chez les souris déficientes en protéines tyrosine kinase de la famille Tec, ITK. En effet, comme chez les souris ITK^{-/-}, ce phénotype disparaît lorsque ces souris sont croisées avec des souris exprimant un TCR transgénique de forte affinité, ou encore avec des souris déficientes pour la molécule de costimulation CD28 ou la molécule SAP. L'analyse des voies de signalisation chez les thymocytes des souris transgéniques Dok-1 nous a permis de montrer que la surexpression de Dok-1 entraîne une diminution de la phosphorylation des protéines LAT, ZAP70 et PLC- γ , importantes pour l'activation lymphocytaire via le TCR. Il semblerait donc qu'une diminution de la signalisation chez lymphocytes T due à la surexpression de Dok-1 soit responsable du développement des lymphocytes T non conventionnels. Nos études tentent de déterminer le rôle des protéines Dok dans le complexe d'activation lymphocytaire et en particulier son implication dans la régulation de l'activité de la tyrosine kinase ITK.

Session I : Immunologie

O1.3

STIMULATION NON SPÉCIFIQUE DU SYSTÈME IMMUNITAIRE PAR LE VACIN BCG (BACILLE CALMETTE-GUÉRIN) ET SURVENUE D'ASTHME INFANTILE

¹M. El-Zein, ¹M-E. Parent, ²A. Benedetti, ¹M-C. Rousseau

¹INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Qc

²Université McGill

Certaines évidences suggèrent que les vaccins pourraient jouer un rôle dans le développement et l'équilibre des voies de régulation du système immunitaire. Le BCG provoque une immunostimulation de la réponse cellulaire par les lymphocytes TH1 ainsi qu'une inhibition rétroactive des mécanismes immuns TH2 associés aux désordres atopiques. L'administration du BCG pourrait donc contribuer à la prévention de l'asthme. Les études épidémiologiques ont généré des résultats équivoques; le BCG protégeant, prédisposant ou n'étant pas lié avec l'asthme infantile. Nous avons mené une recension des études portant sur la relation possible entre la vaccination BCG et l'asthme infantile, puis effectué une méta-analyse de ces résultats. Un total de 23 études a été inclus (10 cohortes, 5 cas-témoins et 8 transversales), et chacune a été évaluée pour sa qualité méthodologique. Trois indicateurs d'exposition de BCG ont été considérés: la vaccination BCG, la réponse à la tuberculine et le diamètre de la cicatrice de vaccination. La méta-analyse a révélé que les 23 études étaient statistiquement hétérogènes, suggérant qu'elles ne pouvaient être mises en commun. L'hétérogénéité était surtout évidente quand l'indicateur d'exposition au BCG était la réponse à la tuberculine. En ne retenant que les 16 études où l'indicateur d'exposition le plus valide était utilisé, la vaccination BCG, un effet protecteur de cette vaccination contre le développement d'asthme a été observé. Le rapport de cotes (OR) commun était 0.86 (intervalle de confiance à 95% : 0.79-0.93). Une association semblable a été observée après exclusion des 3 études ayant les indices les plus faibles pour la qualité de leur méthodologie. Des sous-analyses ont démontré que les caractéristiques méthodologiques des études n'influençaient pas ces conclusions. La documentation du programme québécois de lutte contre la tuberculose par la vaccination au BCG, l'œuvre du Dr. Armand Frappier, offre la possibilité de vérifier cette hypothèse dans notre population. Nous avons amorcé une vaste étude dans laquelle des appariements entre le registre de vaccination BCG et les bases de données démographiques et médicales québécoises nous permettront d'investiguer la survenue d'asthme en lien avec BCG.

O1.4

INITIATION DU REJET DE GREFFE EN ABSENCE D'ORGANES LYMPHOÏDES SECONDAIRES.

Caroline Leduc et Claude Daniel

INRS Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

En transplantation, la nécessité de la présence des organes lymphoïdes secondaires (OLS) pour initier le rejet de greffe est un sujet toujours controversé. Nous avons tenté d'éclaircir la question en utilisant notre modèle murin de greffe de peau qui nous permet d'étudier les voies d'alloréactivité directe et indirecte individuellement. Des résultats obtenus au laboratoire auparavant suggèrent que dans la voie directe, la réponse puisse être initiée au niveau du greffon. La présente étude a donc pour but d'évaluer directement le rôle des OLS dans l'initiation des réponses alloréactives. Le modèle utilisé dans le laboratoire est basé sur le clone de lymphocyte T CD4+ (2.102) qui reconnaît la molécule de CMH de classe II I-Ep par la voie directe et le peptide de l'hémoglobine murine Hb(64-76) présenté par la molécule de CMH de classe II I-Ek par la voie indirecte. Des cellules T CD4+ de souris transgéniques pour le TCR 2.102 sont purifiées et transférées dans des souris splénectomisées déficientes pour la chaîne α du TCR et pour le récepteur de la lymphotoxine β (TCR α KOK/LT β R $^{-/-}$). Ces souris dépourvues de lymphocytes T $\alpha\beta$ de ganglions lymphatiques et de plaques de Peyer ont ensuite été greffées avec de la peau allogénique. Nous avons démontré que les souris sans OLS peuvent rejeter leur greffe de peau mais avec une cinétique de rejet retardée par rapport aux souris avec OLS. Tel qu'attendu, les cellules T CD4+ sont détectées de façon plus importante dans le greffon dès les jours 5 et 7 dans la voie directe et cette infiltration est associée avec une régulation à la hausse de l'ARNm de l'IFN- γ . La présence de l'ARNm d'une enzyme impliquée dans la synthèse des PNA d'exprimées exclusivement sur les endothéliums des OLS ainsi que la présence de CCL19 suggère que des structures lymphoïdes tertiaires peuvent être présentes dans le greffon et pourraient servir de site d'activation. La présence de PNA a été confirmée par immunohistochimie dès le jour 7 dans la voie directe et cette expression est encore plus importante au jour 11. Étonnamment, le rejet dans la voie indirecte survient aussi en absence d'OLS. Par contre, puisque nous détectons beaucoup de cellules T CD4+ qu'à partir du jour 11 dans le greffon, d'autres organes seront examinés afin de déterminer si les cellules T ne sont pas activées ailleurs.

Session I : Immunologie

O1.5

UN VARIANT DU CORONAVIRUS RESPIRATOIRE HUMAIN OC43 POSSÉDANT DES MUTATIONS DE SA PROTÉINES S ACQUISES EN PERSISTANCE ACTIVE LA *UNFOLDED PROTEIN RESPONSE* CHEZ LE NEURONE HUMAIN.

Dominique J. FAVREAU, Marc DESFORGES et Pierre J. TALBOT
Laboratoire de neuroimmunovirologie
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

Notre laboratoire a démontré que les coronavirus respiratoires humains (HCoV) sont neuroinvasifs, neurotropes et neurovirulents et que le neurone est la cible primaire de l'infection par la souche prototype OC43 (HCoV-OC43) dans le système nerveux central murin, provoquant une encéphalite. La mort neuronale associée à plusieurs maladies neurodégénératives semble liée au stress du réticulum endoplasmique. Nous avons donc étudié l'activation de la *unfolded protein response* (UPR) suite à l'infection de neurones humains LA N 5 par la souche sauvage de HCoV-OC43 et un variant possédant 2 mutations dans la protéine virale de surface S et une neurovirulence accrue en souris. Ces mutations ont été observées suite à une infection persistante de cellules neurales humaines et le variant viral a été produit à l'aide d'un clone infectieux d'ADNc. L'activation de la UPR a été étudiée par RT-PCR quantitatif et immunobuvardage et le taux de synthèse protéique a été analysé par incorporation de [³⁵S]Met/Cys. La mort neuronale, la fragmentation de l'ADN et l'activation de la caspase-3, potentiellement liées à la UPR, ont été évaluées. Le variant viral a provoqué une forte diminution de la synthèse protéique et une phosphorylation transitoire de eIF2-alpha, sans augmentation d'expression des protéines GRP78 et ATF4, suggérant un rôle mineur des voies ATF6 et PERK dans la UPR induite. Par contre, une augmentation d'expression des gènes Xbp1(s), P58-ipk et Edem a montré que la voie IRE1/XBP1 était fortement activée par le variant viral. La modulation d'expression des ces gènes pourrait expliquer la faible phosphorylation de eIF2-alpha et une augmentation de la dégradation protéique. Enfin, le variant viral a provoqué la mort neuronale, la fragmentation d'ADN et l'activation de la caspase-3, des marqueurs de l'apoptose. Nos résultats démontrent qu'un variant de HCoV-OC43 portant 2 mutations de sa protéine S acquises lors d'une infection persistante de cellules neurales, induit différemment la UPR chez le neurone infecté, comparé à la souche sauvage, tout en induisant une forte augmentation de la mort neuronale. (Subventionné par l'IMII des IRSC et une bourse du FRSQ)

Session II : Microbiologie

O2.1

IMPACT DE LA CAPSULE POLYSACCHARIDIQUE SUR LES INTERACTIONS BACTÉRIES-CELLULES DENDRITIQUES

Paul Lemire, Marie-Pier Lecours, Nahuel Fittipaldi, Mariela Segura

Groupe de Recherche sur les Maladies Infectieuses du Porc (GREMIP) et Centre de Recherche en Infectiologie Porcine (CRIP)

Les infections causées par les bactéries encapsulées amènent de nombreux problèmes cliniques et économiques en médecine humaine et vétérinaire. Pour ces bactéries pathogènes, la présence d'une capsule polysaccharidique (CPS) à leur surface est importante dans la pathogenèse de l'infection. La CPS est peu immunogène et permet l'invasion bactérienne chez l'hôte. Certaines CPS sont composées, entre autres, de l'acide sialique, reconnu comme un facteur majeur de virulence et d'évasion immunologique. Ceci est le cas du Streptocoque du Groupe B (GBS), une bactérie impliquée dans les infections invasives chez plusieurs groupes dont les nouveau-nés et les personnes âgées. Malgré l'importance de la CPS et son rôle critique dans la pathogenèse de l'infection, les mécanismes reliés à l'immunité innée, et par extension, à l'immunité adaptative sont très peu connus. Nous nous intéressons au rôle de la CPS dans la modulation des interactions entre GBS et les cellules dendritiques (DC), connues comme d'importantes cellules présentatrices d'antigène (APCs). Par changement allélique, nous avons donc créé des mutants GBS sans capsule et/ou acide sialique. De plus, en utilisant des DCs dérivées de moelle osseuse de souris C57BL/6, nous avons observé par microscopie électronique et, par le test de phagocytose, que les souches mutantes et la souche-mère encapsulée sont similairement internalisées par les DCs. En absence du complément, toutes les souches résistent à l'effet bactéricide des DCs. Or, en présence du complément, les souches mutantes sont facilement éliminées par les DCs. Les analyses de l'expression des molécules de costimulation par FACS (MHC-II, CD40 et CD86) et la production de cytokines par ELISA (IL-1 alpha, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-23 et TNF-alpha, MCP-1, KC et IP-10) nous démontrent que toutes les souches induisent des taux d'expression de molécules de costimulation ainsi que des quantités de cytokines similaires. En conclusion, la CPS et/ou l'acide sialique n'empêchent pas la phagocytose de GBS, mais, une fois internalisée, le protègent contre l'effet bactéricide induit par le complément. Finalement, la CPS ne semble pas interférer dans l'activation des DCs.

O2.2

CONTAMINATION MICROBIOLOGIQUE DE SPAS PUBLICS AU QUÉBEC

¹Nicholas Brousseau, ²Benoît Lévesque et ³Éric Dewailly

¹Université Laval

²FRCPC, INSPQ

³CRCHUQ

Les spas constituent un écosystème particulier concernant la flore microbienne qui peut s'y développer. Deux bactéries bien adaptées à l'eau chaude et résistantes aux désinfectants, *Legionella* spp. et *Pseudomonas aeruginosa*, contaminent fréquemment ces bassins. Des éclosions de maladies du Légionnaire causées par *Legionella* spp. et des folliculites à *P. aeruginosa* ont souvent été documentées lors de la fréquentation des spas. L'objectif premier de cette étude était de mieux comprendre les facteurs associés à la contamination de spas publics par trois bactéries d'intérêt. Des paramètres microbiologiques (*Legionella* spp., *P. aeruginosa* et *Escherichia coli*) et des paramètres physicochimiques de l'eau de 95 spas du Québec ont été mesurés à l'été 2008. Pour *Legionella* spp., une méthode PCR en temps réel a été utilisée en plus de la méthode par culture. L'entretien effectué par les responsables de spas a aussi été documenté. Deux variables microbiologiques principales ont été créées, soit la détection de l'une ou l'autre des trois bactéries et la détection de bactéries en concentrations préoccupantes (possibilité de risques augmentés pour la santé). *Legionella* spp. a été détectée dans 22% des spas, *P. aeruginosa* dans 41% et *Escherichia coli* dans 2%. Avec une méthode PCR en temps réel, *Legionella* spp. a été détectée dans 72% des bassins. Des bactéries ont été retrouvées en concentrations préoccupantes dans 25% des spas. *P. aeruginosa* a été détectée dans 28% des bassins avec des concentrations adéquates de désinfectant, confirmant la difficulté de contrôler la flore bactérienne dans ce milieu. Des modèles de régression log binomial ont révélé que les facteurs suivants diminuaient la prévalence de contamination microbiologique préoccupante : une concentration de chlore libre ≥ 2 mg/l ou de brome total ≥ 3 mg/l ($p < 0,01$), un potentiel d'oxydo-réduction > 650 mV ($p < 0,01$), une vidange du spa et un nettoyage de ses parois au moins mensuels ($p = 0,02$) et une turbidité ≤ 1 UTN ($p = 0,01$). Cette étude met en évidence certaines mesures d'entretiens déterminants pour limiter la contamination microbiologique des spas publics. Puisque seulement 4% des gestionnaires étaient formés pour l'entretien des spas, des activités de formation sont nécessaires afin d'assurer la sécurité de ces bassins.

Session II : Microbiologie

O2.3

RÉGULATION DE LA PRODUCTION DES 4-HYDROXY-3-MÉTHYL-2-ALKYLQUINOLINES (HMAQ) CHEZ *BURKHOLDERIA THAILANDENSIS*.

Jean-Philippe Dumais, Marie-Christine Groleau et Eric Déziel
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* produit plusieurs types de molécules-signal impliquées dans la communication intercellulaire. Ces molécules, qui incluent les 4-hydroxy-2-alkylquinolines (HAQ), jouent un rôle dans la régulation de l'expression de plusieurs gènes de virulence. L'opéron pqsABCDE est essentiel pour la biosynthèse des HAQ. Nous avons récemment découvert que certaines espèces de *Burkholderia*, notamment *B. thailandensis*, produisent des HAQ méthylés: des 4-hydroxy-3-méthyl-2-alkylquinolines (HMAQ). *B. thailandensis* est une espèce bactérienne avirulente phylogénétiquement très reliée à *B. pseudomallei*, un pathogène humain responsable de la mélioïdose. La production de HMAQ par *B. thailandensis* est le résultat de l'expression de l'opéron hmqABCDEFG, homologue à pqsABCDE de *P. aeruginosa*, mais contenant deux gènes additionnels, hmqF et hmqG. Ce dernier est responsable de la méthylation des molécules de HAQ. Une autre différence importante entre les deux opérons est leur régulation. Chez *P. aeruginosa*, le gène mvfR est localisé à proximité de l'opéron pqs et code pour un régulateur transcriptionnel de type LysR contrôlant l'expression de pqsABCDE. Par contre, chez *Burkholderia*, aucun régulateur de ce type n'est présent à proximité de l'opéron hmq, et il ne semble pas y avoir de séquence de liaison de type LysR dans sa région promotrice, suggérant que la régulation de cet opéron est distincte du système de régulation de *P. aeruginosa*. Le but de cette étude est d'identifier les gènes impliqués dans la régulation de l'opéron hmq chez *B. thailandensis*. Pour ce faire, j'ai construit un rapporteur hmqA-lacZ génomique pour cette espèce, suivi d'une mutagenèse aléatoire du génome par transposon. Après un criblage en utilisant un phénotype β -galactosidase atténué, j'ai identifié les gènes affectés dans chacun des mutants intéressants par une technique de ligation aléatoire et par amplification PCR. Après un criblage d'environ 70000 colonies de *B. thailandensis*, j'ai quantifié la production de β -galactosidase pour confirmer son atténuation ou inhibition et j'ai retenu les candidats intéressants. La production de HMAQ par les candidats a été quantifiée par analyse LC/MS. Les gènes impliqués dans la production de HMAQ ont été identifiés et leur rôle sera discuté.

O2.4

LES MICROVÉSICULES CHEZ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* : UN TAXI POUR LE QUORUM SENSING?

Geneviève Raoult et Éric Déziel
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène opportuniste responsable, entre autres, d'infections pulmonaires chroniques chez les gens souffrant de fibrose kystique. C'est une espèce bactérienne multi-résistante qui produit un grand nombre de facteurs de virulence (exotoxines, protéases, lipases, etc.). L'expression de ces facteurs de virulence est régulée par des mécanismes de quorum sensing (QS). Le QS est une forme de communication intercellulaire que les bactéries utilisent afin de percevoir, à l'aide de petites molécules signal auto-inductibles, l'atteinte d'une densité de population dans le but de coordonner l'expression de certains de leurs gènes. Cette coordination de leurs actions leur permet d'avoir un plus grand impact, lors d'une infection par exemple. Le 3,4-dihydroxy-2-heptylquinoline (*Pseudomonas* Quinolone Signal; PQS) est une des molécules-signal connues chez *P. aeruginosa*. Le PQS et d'autres facteurs de virulence extracellulaires (hémolysine, phospholipase, aminopeptidase, etc.) sont associés aux microvésicules (MV) membranaires produites par *P. aeruginosa*. La production de MV provenant de la membrane externe chez des bactéries à Gram négatif est un phénomène répandu mais très mal compris. Ces structures d'environ 50 nanomètres de diamètre contiennent des composés périplasmiques. On observe une exclusion ou un enrichissement de certains composés dans les MV par rapport à la membrane externe et au périplasma de la cellule bactérienne. Les mécanismes menant à cette ségrégation de même que ceux impliqués dans la biogenèse des MV ne sont pas encore bien connus à ce jour. L'association du PQS avec les MV nous a amené à avancer l'hypothèse que ces dernières pourraient être nécessaires au transport, d'une cellule à l'autre, de la molécule signal hydrophobe qu'est PQS. Un protocole de purification des MV de cultures de *P. aeruginosa* a été optimisé. Une comparaison de l'induction par PQS libre en solution et PQS lié aux MV de la transcription d'un gène normalement régulé par la présence de PQS, à l'aide d'un essai mesurant l'activité de la β -galactosidase, a aussi été effectuée. Un modèle intégrant les différents éléments théoriques et expérimentaux disponibles nous permettant d'investiguer notre hypothèse sera présentée.

Session II : Microbiologie

O2.5

IDENTIFICATION DES SOURCES DE POLLUTION FÉCALE DANS LES EAUX DE SURFACE PAR DÉTECTION DE L'ADN MITOCHONDRIAL COMME MARQUEUR SPÉCIFIQUE D'ESPÈCE.

¹Marianne Imbeau, ¹Annie Locas, ¹Pierre Payment, ²Nguyet Minh Vuong, ²Luke Masson et ¹Richard Villemur

¹INRS-Institut Armand-Frappier

²Instituts et programmes en biotechnologie du CNRC

La contamination fécale humaine et animale des eaux de surface a des impacts considérables sur l'environnement et la santé publique. En effet, l'utilisation récréative ou domestique de cette eau favorise le contact entre la population et les pathogènes fécaux, allant jusqu'à provoquer l'éclosion de maladies infectieuses. Plusieurs situations peuvent causer ce type de contamination et la situation peut s'avérer très complexe dans un grand bassin versant, surtout lorsque celui-ci est bordé de zones urbaines, agricoles et d'élevage. L'identification des sources réelles de contamination est donc essentielle à l'élaboration d'une stratégie de gestion ou de réhabilitation d'un cours d'eau. Bien que les laboratoires d'analyse sont en mesure de détecter la contamination fécale par le décompte de microorganismes indicateurs comme les coliformes thermotolérants, ils n'ont toutefois pas accès à une méthode fiable leur permettant de déterminer efficacement quelle espèce animale est à l'origine de la contamination. De récentes études ont démontré que la détection d'ADN mitochondrial (mt) dans l'eau est assez spécifique et sensible pour l'utiliser comme indicateur de la source d'une contamination fécale. En effet, le génome mt est propre à chaque espèce et se retrouve en plusieurs copies dans les cellules, notamment celles de la paroi intestinale qui sont excrétées via les fèces. Ce projet propose de développer et d'optimiser une méthode d'amplification par PCR permettant le suivi des marqueurs mitochondriaux pour plusieurs espèces animales et de l'appliquer à l'étude des sources de contamination fécale dans des bassins versants dont la contamination est récurrente. Pour ce faire, des amorces PCR spécifiques aux séquences d'ADNmt des espèces animales ciblées par l'étude ont été conçues et validées pour élaborer une méthode appropriée d'amplification et de détection par PCR. En parallèle, différents échantillons d'eau de surface des bassins versants de la rivière l'Assomption (Québec) et de la rivière South Nation (Ontario) ont été prélevés pour effectuer le décompte des coliformes thermotolérants et l'extraction d'ADN total. Notre méthodologie d'amplification PCR spécifique à l'espèce sera alors utilisée pour identifier la (les) source(s) de contamination fécales.

Session III : Virologie

O3.1

CARACTÉRISATION DU POTENTIEL ONCOLYTIQUE DE MUTANTS DU VIRUS DE LA STOMATITE VÉSICULAIRE.

^{1,2,3}Valérie Janelle, ^{2,3}Frédéric Brassard, ^{2,3}Kathya Dupont, ^{2,3}Alain Roy, ^{1,2} Alain Lamarre et ^{2,3}Laurent Poliquin.

¹INRS–Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

²Centre de Recherche Biomed

³Département de Biologie, Université du Québec à Montréal, Montréal

Le virus de la stomatite vésiculaire (VSV) est connu comme étant un outil oncolytique de choix. Cette efficacité d'oncolyse lui vient, du moins en partie, du fait que les tumeurs sont souvent déficientes dans la cascade de sécrétion du facteur antiviral qu'est l'interféron et deviennent donc une cible préférentielle des virus. Des mutants de la protéine de la matrice (M) ont jusqu'à maintenant été favorisés pour les études d'oncolyse de par leur induction d'interféron dans les cellules infectées, menant par contre généralement à l'induction d'effets cytopathiques plus faibles que la souche sauvage tout en ayant une propension à la persistance dans les cellules in vitro. À l'opposé, les mutants thermosensibles TP5 et TP6, de même que leur révertants TP5R1 et TP6R1, ont révélé des mutations dans la glycoprotéine d'enveloppe (G) sans toutefois que celles-ci interfèrent avec les taux de réplication virale ni avec l'induction d'effets cytopathiques. Nous avons donc été intéressés par la caractérisation du potentiel de ces mutants dans une optique de virothérapie oncolytique. Nous avons ainsi investigué leur inhibition de la transcription cellulaire et avons démontré qu'ils sont plus efficaces à ce niveau que la souche parentale HR. Nous avons également démontré que la majorité des mutants induit une production d'interféron ce qui permettrait aux cellules saines de se protéger de l'infection. De plus, nous avons établis que ces mutants sont autant sinon plus efficaces que la souche parentale dans l'induction de la mort de cellules transformées telles que des mélanomes, fibrosarcome et carcinome pulmonaire. Ces résultats suggèrent que ces mutants du VSV pourrait s'avérer être de bons candidats en vue de thérapies oncolytiques puisqu'ils pourront se répliquer efficacement dans les tumeurs tout en induisant une forte réponse antivirale dans les tissus sains avoisinants.

O3.2

LA PROTÉINE NS1 DU VIRUS INFLUENZA RETARDE L'INDUCTION D'UNE RÉPONSE IMMUNITAIRE INNÉE.

Isabelle Meunier et Veronika von Messling

INRS- Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

Le virus de la grippe cause une infection aigüe principalement contrôlée par le système immunitaire inné. Bien que ce dernier soit généralement efficace à contrôler la réplication du virus et à prévenir la dissémination, il arrive que certaines souches réussissent à en contrecarrer les effets, causant alors une maladie plus sévère comme il en a été le cas pour le virus de la grippe espagnole de 1918. La protéine non-structurale 1 (NS1) a été identifiée comme un inhibiteur majeur du système immunitaire. Notamment, elle est associée à l'inhibition de certaines voies de signalisation et dans la réponse aux interférons de type I (IFN I). Nous avons émis comme hypothèse que la protéine NS1 de souches plus pathogènes est plus efficace à interférer avec l'immunité innée, causant une maladie plus sévère. Pour ce faire, nous avons généré des virus recombinants possédant les NS1 de trois souches H1N1: PR/8/34 (PR/8), faiblement pathogène, USSR/90/77 (USSR), moyennement pathogène et celle de la grippe espagnole de 1918, hautement pathogène. Des essais luciférase ont démontré que la NS1 de 1918 était plus efficace à inhiber l'activation des gènes induits par les IFN ainsi que la signalisation de NF- κ B. In vitro, le virus recombinant possédant le NS1 de 1918 contrôle très tôt suite à l'infection la production d'IFN I, contrairement au virus avec le NS1 de PR/8. Des furets ont ensuite été infectés avec les virus recombinants. Conformément à notre hypothèse, l'infection avec le virus recombinant possédant le NS1 de 1918 causait une fièvre plus forte et plus soutenue ainsi que des signes cliniques plus sévères. De plus, la présence de NS1 de souches plus pathogènes était associée avec un retard dans l'élimination du virus dans le tractus respiratoire supérieur ainsi qu'à une dissémination vers les poumons. Finalement, l'infection avec le virus possédant le NS1 de PR/8 induisait une plus forte production des cytokines pro-inflammatoires IL-8 et TNF- α ; et des IFN I, signe d'une meilleure activation de l'immunité innée. En conclusion, ces résultats suggèrent que la protéine NS1 de souches plus pathogènes provoque un retard dans l'induction d'une réponse immunitaire innée, notamment dans la production de cytokines pro-inflammatoires, dans la réponse aux IFN I et dans l'induction d'un état antiviral.

Session III : Virologie

03.3

IDENTIFICATION DES DÉTERMINANTS GÉNOMIQUES DU TROPISME DU PARVOVIRUS PORCIN

Sandra Fernandes, J. Szelei, M. Boisvert et P. Tijssen
INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Qc

Kresse et NADL-2 sont deux souches de parvovirus porcin (PPV), un important pathogène chez les porcs. Leur génome d'ADN simple brin de 5kb ne diffère que par 12 nucléotides et par une répétition de 127 nucléotides en aval de la région codante des protéines structurales. Ces petites différences génétiques entraînent toutefois de grandes conséquences pour la pathogénèse. La souche NADL-2, qui a une forte réplication en culture cellulaire, est atténuée in vivo et est actuellement utilisée pour la vaccination des porcs. À l'inverse, la souche Kresse a une réplication plus faible in vitro mais est fortement pathogène chez l'animal. Bien que les séquences des génomes de ces souches de PPV soient connues depuis plusieurs années, les déterminants moléculaires de ce tropisme différentiel n'ont jamais été évalués. En effet, la présence de structures d'ADN complexes, tels qu'en épingle à cheveu, et l'absence de sites de restriction aux extrémités du génome, empêchent l'utilisation des méthodes classiques pour générer des chimères du PPV. À cette fin, un système de clonage sans trace a été développé, utilisant les propriétés particulières des enzymes de restriction de type IIB. Cette méthode permet l'assemblage de longs segments d'ADN complexe à partir de courts fragments en l'absence de sites de restrictions. Ainsi, des chimères des génomes des souches de PPV ont été créées afin de cibler les différences génétiques contribuant à l'efficacité de la réplication de ce virus en culture cellulaire. Selon les résultats obtenus, plusieurs régions du génome contribuent aux phénotypes observés. En ce sens, la répétition non-traduite augmente l'efficacité de réplication de la souche NADL-2 mais ne peut à elle-seule expliquer la totalité des différences. Les différences non-codantes dans les gènes NS entraînent une réplication du génome plus précoce ainsi qu'une synthèse plus rapide des protéines structurales (VP). Pour leur part, quelques différences codantes au sein des protéines VP contribuent à l'efficacité de la réplication virale. En somme, ceci illustre que le tropisme viral résulte d'une suite d'interactions complexes entre les régions du génome portant des différences codantes et non-codantes ainsi que des régions non-traduites.

03.4

CARACTÉRISATION DU COMPLEXE DE RÉPLICATION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU NAVET (TuMV).

Romain Grangeon, Sophie Cotton, et Jean-François Laliberté.
INRS-institut Armand-Frappier, Laval, Qc

Le virus de la mosaïque du navet (TuMV) possède un génome à ARN de polarité positive d'environ 10kb. Ce génome est traduit en une polyprotéine qui est autoclivée pour donner 10 protéines matures. L'ARN est lié de façon covalente à la protéine virale VPg en 5', tandis qu'il est polyadénylé en 3'. La réplication de l'ARN viral se déroule dans des vésicules cytoplasmiques induites par le virus et qui bourgeonnent du réticulum endoplasmique (RE). Des plantes de *Nicotiana benthamiana* ont été agroinfiltrées avec un clone infectieux du TuMV dont la protéine 6K2 est fusionnée à une protéine fluorescente (GFP ou mCherry). Ainsi lors de l'infection, la protéine 6K2 induit la formation des vésicules cytoplasmiques qui fluorescent en vert ou en rouge. L'observation de la fluorescence de ces vésicules en microscopie confocale a révélé que celles-ci étaient mobiles dans la cellule. Un traitement des plantes à la latrunculine B, un inhibiteur de la polymérisation des microfilaments, 2 à 4 h avant l'agroinfiltration supprime le mouvement des vésicules. Ce traitement ralentit également la production du virus. Ces données indiquent que les vésicules de réplication du TuMV utilisent les microfilaments pour se déplacer dans la cellule, et que ces déplacements sont nécessaires à la réplication du virus. Nous avons également co-exprimé le clone infectieux du TuMV avec un marqueur des microfilaments, le domaine qui lie l'actine de la fibrillarine fusionné à la GFP. Cette expérience a confirmé que les vésicules s'alignent le long des microfilaments. D'autre part, nous avons généré des délétions du domaine N-terminal et transmembranaire de la protéine 6K2 afin de déterminer quelle partie de la protéine est responsable de la formation des vésicules. Les mutants ayant des délétions dans la partie transmembranaire ne sont plus capables d'induire des vésicules cytoplasmiques. Étudier les mouvements des vésicules et leurs biogénèses est une étape importante pour améliorer la compréhension de la réplication des potyvirus.

Session III : Virologie

O3.5

CARACTÉRISATION DES SIGNAUX DE LOCALISATION NUCLÉAIRE ET NUCLÉOLAIRE DE LA PROTÉINE REV DU VIRUS DE L'IMMUNODÉFICIENCE BOVINE, UN VIRUS APPARENTÉ AU VIRUS DU SIDA.

Andrea Gomez et Denis Archambault.

Département de Sciences Biologiques. Université du Québec à Montréal.

La protéine Rev a une fonction essentielle dans la réplication des lentivirus comme le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et le virus de l'anémie infectieuse équine (EIAV). Rev a comme rôle l'exportation des ARNs viraux non épissés et partiellement épissés du noyau au cytoplasme. Pour transporter les ARNs, la protéine Rev réalise un cycle de transport entre le noyau et le cytoplasme. Pour l'étape de son entrée dans le noyau, Rev interagit avec l'importine qui reconnaît le signal de localisation nucléaire (NLS) de Rev. La protéine Rev contient également un signal de localisation nucléolaire (NoLS). Les NLSs et NoLSs des principales protéines Rev des lentivirus ont été bien caractérisés. Ces NLSs sont du type classique monopartite et les NoLS sont localisés dans la même région que les NLSs. L'unique étude réalisée sur Rev du VIB a démontré que c'est une protéine qui se localise au noyau et au nucléole des cellules infectées. Cependant, la localisation et la composition des différents domaines fonctionnels de Rev du VIB n'ont pas encore été déterminées. Pour identifier le NLS et le NoLS de Rev du VIB, différents plasmides d'expression associés à des mutants de délétion de Rev (par tranche de 20 aa) fusionnés à la protéine GFP ont été générés, puis transfectés dans des cellules appropriées. La localisation des différentes protéines exprimées a été analysée par microscopie confocale. Les résultats ont montré que la protéine Rev du VIB contient deux régions impliquées dans la localisation nucléaire. Par la suite, les régions impliquées ont été délimitées par la réalisation de délétions ponctuelles des acides aminés basiques de type Arginine et Lysine. Les résidus importants ont été confirmés par mutagenèse dirigée. Les résultats ont montré que le NLS de Rev du VIB est du type bipartite. Les résidus qui composent le NoLS se trouvent dans la région séparant les NLSs. Cette étude est le premier rapport d'un NLS bipartite dans la famille de protéines Rev chez les lentivirus. Le motif du NoLS est aussi nouveau.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

O4.1

IDENTIFICATION D'UN NOUVEAU PARTENAIRE D'INTÉRACTION DE LA MT1-MMP INTRACELLULAIRE.

Nancy Berger-Thibault, Denis Gingras, Richard Béliveau.

Université du Québec à Montréal, Laboratoire de médecine moléculaire, Montréal, Québec, Canada.

La MT1-MMP (métalloprotéase transmembranaire de type 1) est une enzyme impliquée dans le clivage de plusieurs substrats, tels que le CD44, la MMP-2 et la MMP-9, et possédant une activité collagénase intrinsèque lui permettant de dégrader le collagène de type I. Elle constitue donc une cible intéressante dans l'optique du développement d'une voie thérapeutique contre le cancer. Nous avons précédemment démontré que la MT1-MMP peut être phosphorylée sur la tyrosine 573 de son domaine cytoplasmique par un mécanisme dépendant des kinases de la famille de Src. Cette forme phosphorylée de la MT1-MMP (pMT1-MMP) augmente la migration et la croissance des cellules tumorales, mais les mécanismes impliqués dans ces processus sont encore inconnus. Nos résultats démontrent que chez les cellules tumorales, la pMT1-MMP peut se localiser dans le noyau où elle interagit avec la NPM-1 (nucléophosmine), une protéine nucléolaire impliquée entre autres dans la prolifération et la survie cellulaires. L'interaction entre la portion cytoplasmique de la pMT1-MMP et la NPM-1 est augmentée par une stimulation au FBS ou à la S1P alors qu'elle est inhibée par l'ajout de PP2, un inhibiteur de la voie de Src. Les effets de la forme phosphorylée de la MT1-MMP sur la prolifération et la survie des cellules tumorales pourraient donc être en partie dépendants de son interaction avec la NPM-1.

O4.2

RÔLE PROTECTEUR DE LA MÉLATONINE PLACENTAIRE DANS LA GROSSESSE NORMALE.

D. Lanoix, C. Vaillancourt

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC

Nous avons démontré que les enzymes synthétisant la mélatonine (AANAT et HIOMT) et ses récepteurs (MT1 et MT2) sont exprimés et fonctionnels dans le trophoblaste villositaire du placenta humain. La pré-éclampsie est une maladie de la grossesse d'origine placentaire responsable d'une lourde morbidité maternelle et périnatale qui complique de 3 à 7 % des grossesses au Canada et qui est associée à une diminution des taux sanguins maternels de mélatonine et à une augmentation de l'apoptose du trophoblaste villositaire. Notre hypothèse est (1) que la mélatonine joue un rôle protecteur dans le maintien de l'homéostasie du trophoblaste villositaire et (2) qu'une altération du système mélatonine placentaire est liée au dysfonctionnement du trophoblaste villositaire et, par conséquent, joue un rôle dans la pré-éclampsie. Les objectifs de cette étude sont : (1) de déterminer le rôle de la mélatonine dans la survie du trophoblaste villositaire et (2) de comparer le système mélatonine placentaire dans les placentas provenant de grossesses compliquées par une pré-éclampsie par rapport à ceux de grossesses normotensives. Nos résultats montrent que, dans les cultures primaires de trophoblastes villositaires à terme, la mélatonine (10 μ M) inhibe significativement l'apoptose mitochondriale (détection du potentiel membranaire ainsi que l'expression de la protéine BAX et des caspases 3 et 9). Dans les placentas de grossesses pré-éclampsiques, l'expression (ARNm et protéine) et l'activité des enzymes AANAT et HIOMT sont significativement diminuées par rapport aux placentas de grossesses normotensives. Ces données sont corrélées à la diminution des niveaux de mélatonine dans les placentas de pré-éclampsie par rapport aux normotensifs. D'autre part, nous observons une diminution de l'expression (ARNm et protéine) des récepteurs MT1 et MT2 dans les placentas de pré-éclampsie par rapport aux normotensifs. Ces résultats démontrent une altération du système mélatonine placentaire dans la grossesse pré-éclampsique. Nos résultats suggèrent que la mélatonine placentaire joue un rôle protecteur dans la grossesse en inhibant l'apoptose du trophoblaste villositaire et qu'une altération du système mélatonine placentaire est impliquée dans la pathogénèse de la pré-éclampsie.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

O4.3

ÉTUDE DE LA RÉGULATION DE L'EXPRESSION DE PAX-5 DANS LE CANCER DU SEIN : IMPLICATION DES RÉCEPTEURS D'ŒSTROGÈNE ER α ET ER β .

Mame Daro Faye et Rodney Oueltte(PhD)

Département de Chimie et Biochimie, Université de Moncton et Institut Atlantique de Recherche sur le Cancer, Moncton, NB

Le cancer du sein est le type de cancer le plus répandu chez les femmes canadiennes. Les récepteurs d'œstrogène ER α et ER β sont des facteurs transcriptionnels ligand-dépendant qui transmettent les effets biologiques des œstrogènes et qui sont connus pour leur implication dans l'initiation et la progression de ce type de cancer. Pax-5 est un autre facteur transcriptionnel dont la dérégulation a été mise en évidence dans certains types de cancers, notamment les lymphomes non-Hodgkinien et les leucémies lymphoblastiques aiguës. Il est principalement exprimé dans les cellules B mais plusieurs études récentes suggèrent sa présence dans d'autres types cellulaires, dont les cellules mammaires. De plus, nous avons identifié plusieurs sites potentiels de liaison des récepteurs d'œstrogène sur le promoteur de Pax-5 et il a déjà été rapporté que Pax-2, un membre de la même sous-famille de gènes que Pax-5, est régulé par ER α dans les cellules épithéliales cancéreuses de l'utérus. D'où notre hypothèse selon laquelle Pax-5 serait un gène cible des récepteurs d'œstrogène dans le cancer du sein. Dans cette étude, le profil d'expression de Pax-5 a été caractérisé par immunofluorescence et immunohistochimie dans diverses lignées cellulaires mammaires et tumeurs primaires du sein. Dans un second temps, la liaison du promoteur de Pax-5 ainsi que sa modulation par les récepteurs d'œstrogène ER α et ER β ont été étudiées, respectivement par essai de gel à retardement et essai luciférase. Nous rapportons ici l'expression de Pax-5 dans la lignée mammaire cancéreuse MCF-7 ainsi que dans la majorité des tumeurs mammaires considérées exprimant les récepteurs d'œstrogène, mais non dans les lignées mammaires MB-231 et MCF-10A. Nous montrons aussi qu'ER α et ER β se lient aux sites de liaison trouvés sur son promoteur et influencent différemment leur activité sous stimulations au 17 β -estradiol et au Tamoxifen. Ces résultats montrent pour la première fois un rôle pour les récepteurs d'œstrogène dans la régulation de l'expression de Pax-5 au niveau du cancer du sein et suggèrent un mécanisme par lequel cet oncogène contribuerait à ce type de cancer.

O4.4

LE CNTF AUGMENTE LA SENSIBILITE AU FROID EN CONDITIONS NON INFLAMMATOIRES ET DIMINUE LA SENSIBILITE AU CHAUD EN CONDITIONS INFLAMMATOIRES.

¹Marie-Claude Letellier, ¹Jean-Sébastien Walczak, ¹Sandrine Crabé, ²Marie Gingras, ²François Berthod, ³Greg Elson, ¹Pierre Beaulieu and ¹Jean-François Gauchat.

¹Département de pharmacologie, Université de Montréal, Montréal, Qc.

²Laboratoire d'Organogénèse Expérimentale (LOEX), Université Laval, Québec, Qc, Canada

³NovImmune SA, Genève, Suisse.

Le *Cold Induced Sweating Syndrome* (CISS) et le syndrome de Crisponi sont deux maladies autosomales récessives. Les patients ont des anomalies au niveau de la thermorégulation ; ils souffrent d'hyperhidrose au froid et d'hyperthermie au chaud. Les patients CISS ont également une insensibilité relative à la douleur. La nociception et la thermorégulation nécessitent les récepteurs thermoTRPs, une sous-famille des TRPs (Transient Receptor Potential), récepteurs sensoriels conservés au cours de l'évolution. Le génotypage des patients CISS et Crisponi a montré des mutations des gènes codant pour CLC (Cardiotrophin-Like Cytokine) ou CLF (Cytokine-Like Factor), le complexe CLC/CLF pouvant activer le récepteur au CNTF (Ciliary Neurotrophic Factor). Notre hypothèse était donc que la voie du récepteur au CNTF avait un rôle sur la thermorégulation et la nociception via les thermoTRPs. Nous avons étudié, chez la souris, l'effet de l'administration de CNTF sur les sensibilités thermiques et nociceptives et leur variation en conditions inflammatoires. La sensibilité au froid a été étudiée à l'aide de la plaque double, permettant de mesurer la préférence pour différentes températures. Des agonistes des récepteurs TRPM8 et TRPA1, récepteurs détectant les températures froides, et de TRPV1, impliqué dans la réponse inflammatoire, ont aussi été utilisés pour mesurer le comportement nociceptif. Le processus inflammatoire était induit avec une injection de carragénine 24 heures avant l'injection de l'agoniste. CNTF augmente la sensibilité au froid (13° et 18°) ainsi qu'aux agonistes de TRPM8 et TRPA1 sans modifier la réponse à l'agoniste de TRPV1. En conditions inflammatoires, le CNTF ne semble pas modifier la sensibilité aux agonistes de TRPM8 ou TRPA1 alors qu'il inhibe l'hyperalgésie l'agoniste de TRPV1, causée par le processus inflammatoire. CNTF représente donc une molécule intéressante d'un point de vue pharmacologique dans le traitement des douleurs inflammatoires.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

O4.5

PAX-5B : UN ONCOGÈNE PUISSANT QUI RÉGULE LE DESTIN CELLULAIRE B.

Mélanie Bédard et Gilles Robichaud

Université de Moncton

Les gènes de la famille PAX (paired box), qui sont des régulateurs importants du développement, peuvent conduire à une transformation néoplasique lorsque dérégulés. Plus spécifiquement, Pax-5, un élément nécessaire au développement des cellules B, est connu pour son rôle oncogénique dans divers types de cellules et tissus. En effet, plusieurs études démontrent son implication chez les cancers de lymphocytes B, testiculaire et mammaire. Sous le contrôle de deux promoteurs alternatifs, Pax-5 peut générer simultanément deux différentes formes de protéines dans les cellules (c.-à-d. Pax-5A et Pax-5B). Toutefois, la grande majorité des articles scientifiques consacrée à Pax-5 ont axé leur étude sur l'isoforme 5A sans toutefois faire de discrimination fonctionnelle avec le variant 5B. Récemment, des études ont souligné l'importance du variant Pax-5B dans la régulation de la croissance et de la mort programmée (apoptose) des lymphocytes B humains. Bien que ces études démontrent une association entre Pax-5B et le destin cellulaire, le mécanisme moléculaire à la base de cette régulation est encore mal connu. Le but de cette étude était donc d'élucider la signalisation intracellulaire menée par l'oncogène Pax-5B aboutissant à la régulation de l'apoptose des cellules B. Par l'intermédiaire d'un système cellulaire dépourvu de l'expression de Pax-5B, nous avons évalué l'expression et l'activité d'éléments protéiques déterminants de l'apoptose et de la survie cellulaire tels que p53, Bax, Bcl2, ERK, Fas et Akt. À l'aide d'essais de neutralisation, d'immunobuvardages de type western, de PCR quantitatif et de cytométrie de flux, nous démontrons qu'une déficience en Pax-5B mène à une activation de la voie apoptotique dépendante de p53 tout en inhibant les voies de survies cellulaires régulées par les ERK et Akt. Ces études sont parmi les premières à caractériser la signalisation moléculaire responsable du développement tumoral des lymphocytes B par l'oncogène Pax-5B. Quoique des études plus approfondies soient nécessaires pour clarifier plus précisément son rôle fonctionnel en tant que facteur de transcription dans ces voies signalétiques, Pax-5B demeure un candidat véridique à considérer dans la recherche et la compréhension du cancer lymphocytaire B.

Session V : Toxicologie et Pharmacochimie

05.1

CARTOGRAPHIER LES DOMMAGES À L'ADN À L'ÉCHELLE D'UN GÉNOME.

Frédéric Leduc, Marie-Chantal Grégoire, Méлина Arguin et Guylain Boissonneault
Département de Biochimie, Faculté de Médecine, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Qc.

Plusieurs processus cellulaires comme la différenciation cellulaire des lymphocytes et des cellules musculaires présentent des cassures bicaténares de l'ADN. Les spermatozoïdes, qui se transforment en spermatozoïdes, présentent aussi des cassures bicaténares transitoires lors de leur remodelage de la chromatine. Étant donné qu'elles sont des cellules haploïdes, ces cassures représentent un risque mutagène important et encore inexploré. Or, il existe peu de méthodes qui évaluent l'intégrité génomique et celles-ci le font soit de façon très qualitative à l'échelle de la cellule, soit à la résolution nucléotidique mais limitée par l'utilisation d'amorces spécifiques. Ainsi, seulement une faible proportion du génome est étudiée et de nouvelles régions d'instabilité génomique sont rarement identifiées par ces techniques. Afin d'identifier de nouvelles régions comportant une sensibilité accrue aux cassures de l'ADN, nous avons mis au point une technique, appelée "damaged DNA immunoprecipitation" ou dDIP, pour cartographier les cassures de l'ADN à l'échelle du génome et ce, sans compromis sur la résolution. L'enrichissement par dDIP des séquences endommagées ont été mesurées par PCR en temps réel à l'aide d'un modèle plasmidique *in vitro* et de deux modèles inductibles de cassure bicaténaire endogène, soit le locus de recombinaison de la levure *S. cerevisiae* et un site de restriction I-SceI inséré dans une lignée cellulaire humaine. Nous obtenons une efficacité d'immunoprécipitation d'environ 42 % dans les locus visés par les cassures induites démontrant l'efficacité de la technique. En combinaison avec les technologies de biopuces d'ADN ou de pyroséquençage, les chercheurs pourront, grâce à la dDIP, cartographier et établir un profil des cassures d'ADN des gènes et des séquences intergéniques d'un génome complet. Cette technique peut s'appliquer aux études sur le cancer, le vieillissement et la reproduction. Employant cette stratégie, nous comptons cartographier les cassures d'ADN des spermatozoïdes afin de mieux comprendre leur impact sur la fertilité masculine, ce qui constituerait le premier pas vers la compréhension génétique de certaines formes d'infertilité masculine humaine et l'apparition de novo de maladies génétiques.

05.2

EXPOSITION PROFESSIONNELLE AU PLOMB ET RISQUE DE CANCER DU POUMON.

¹Willy Wynant, ^{1,2}Jack Siemiatycki, ³Marie-Élise Parent, ³Marie-Claude Rousseau

¹Centre Hospitalier de l'Université de Montréal

²Université de Montréal

³INRS-Institut Armand-Frappier

Le Centre international de recherche sur le cancer a classifié le plomb inorganique comme agent probablement carcinogène, le plomb organique demeurant inclassable faute de preuves suffisantes. Nous avons étudié l'exposition au plomb en lien avec le cancer du poumon dans une étude cas-témoin menée à Montréal (1996-2001). Des entrevues ont permis de colliger des données incluant l'histoire professionnelle et de tabagisme chez 738 hommes atteints de cancer du poumon et 899 témoins de la population. Des experts chimistes ont inféré, pour chaque emploi, les substances auxquelles le sujet a pu être exposé. Pour chaque sujet, un indice cumulatif tenant compte de la fréquence, concentration et durée d'exposition a été estimé pour le plomb organique, inorganique et provenant des émissions de moteurs. Si la concentration et la fréquence étaient moyennes ou élevées pendant plus de 5 ans, l'exposition était considérée comme substantielle. Les rapports de cotes (RC) ajustés et les intervalles de confiance à 95% (IC 95%) ont été estimés par régression logistique. Globalement, 2%, 16% et 20% des sujets ont été exposés au plomb organique, inorganique et provenant des émissions de moteurs, respectivement. Aucune association significative n'est apparue en comparant les individus exposés aux non-exposés (Pb organique: RC=0.98, IC 95%:0.40-2.42; Pb inorganique: RC=0.89, IC 95%:0.61-1.29; émissions de moteurs: RC=0.86, IC 95%:0.61-1.20). Similairement, aucune association significative n'a été observée en considérant l'exposition cumulative. Pour le plomb inorganique, ni une exposition non substantielle (RC=0.87, IC 95%:0.59-1.27), ni une exposition substantielle (RC=1.32, IC 95%:0.41-4.26) n'augmentaient significativement le risque comparativement aux sujets non exposés. Il en était de même pour le plomb lié aux émissions de moteurs (exposition non substantielle, RC=0.78, IC 95%:0.54-1.11; exposition substantielle, RC=1.32, IC 95%:0.68-2.57). Afin d'améliorer la puissance statistique, ces données ont été jointes à celle d'une autre étude cas-témoins montréalaise (1979-1986), ce qui n'a globalement pas modifié les résultats. En conclusion, aucune augmentation notable du risque de cancer du poumon n'a été observée.

O5.3

ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ PULMONAIRE DES VAPEURS D'ÉTHANOL DANS UN MODÈLE ANIMAL D'ASTHME ALLERGIQUE.

^{1,2}Andrea Scarino, ²Robert Tardif et ¹Michel Charbonneau

¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

² Université de Montréal, Montréal, Qc

L'éthanol est de plus en plus utilisé dans l'essence dans le but de réduire les émissions de gaz à effet de serre des véhicules. Quoique cette initiative pourrait être profitable pour l'environnement, l'être humain se retrouve exposé de façon involontaire par voie d'inhalation à des concentrations croissantes de vapeurs d'éthanol. Il existe un besoin de connaissances pour l'obtention de données permettant d'évaluer le risque à la santé humaine que pose l'utilisation croissante de carburants additionnés d'éthanol. La présence d'une condition pathologique pulmonaire, telle l'asthme allergique qui touche 270 millions de personnes mondialement, pourrait augmenter la susceptibilité à la toxicité pulmonaire induite par des vapeurs d'éthanol. Le présent projet vise à étudier la réponse inflammatoire pulmonaire de l'éthanol inhalé chez des rats asthmatiques, en utilisant un modèle d'asthme allergique chez le rat Brown Norway sensibilisé à l'ovalbumine et provoqué avec ce même allergène 14 d plus tard. Des lavages bronchoalvéolaires (BAL) à différents temps suivant la provocation (6-72 h) ont montré un maximum de cellules inflammatoires à 36-48 h : éosinophiles (45 %), macrophages (38 %), neutrophiles (13 %), lymphocytes (4 %). En variant la concentration d'ovalbumine lors des provocations (0.5, 1.5, 3 et 5 %), nous avons sélectionné une condition (1.5 %) pouvant être modulée à la hausse ou à la baisse (environ 30 % de l'effet maximum). À 6, 16, 24, 48 et 72 h suivant la provocation, aucune différence significative n'a été observée chez les rats exposés à l'éthanol (6h/d pendant 14 d à 3000 ppm) en comparaison des rats témoins. Au niveau de la santé publique, ces données indiquent que la contamination de l'air urbain par des vapeurs d'éthanol provenant de l'essence ne contribuera pas à exacerber l'asthme allergique. Les sous-produits de la combustion de l'éthanol (ex. acétaldéhyde et formaldéhyde) et l'effet d'une exposition concomitante à d'autres contaminants atmosphériques, dont les particules fines et l'ozone, devront aussi être étudiés dans ce modèle pour compléter l'analyse de risque posé par l'addition d'éthanol à l'essence.

O5.4

STATUT IMMUNITAIRE DU OUAOUARON (*RANA CATESBEIANA*) EXPOSÉ À DES PESTICIDES D'ORIGINE AGRICOLE.

¹Dussault, S., ¹Brousseau, P., ¹Fournier, M., ¹Fortier, M., ²Boily, M.

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

²Centre Toxén et Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Qc.

Depuis plusieurs années, le sort planétaire des amphibiens est très inquiétant. Dans le but de comprendre pourquoi, nous avons décidé d'étudier l'impact des agripesticides sur le système immunitaire. Sous l'influence de cette pollution ce système pourrait fonctionner d'une manière non optimale, ce qui pourrait engendrer l'augmentation des infections mortelles et ainsi expliquer le déclin. Le système immunitaire des amphibiens est composé de plusieurs cellules, dont les macrophages et les lymphocytes mais aussi de peptides retrouvés au niveau de la peau. Le but de cette étude est d'établir un lien entre le niveau de pollution agricole et la capacité du système immunitaire à bien protéger les grenouilles. Dans cette perspective, deux études ont été effectuées. Dans un premier temps, un échantillonnage de ouaouarons a été effectué dans six bassins versant de la rivière Yamaska et leur statut immunitaire a été vérifié. Les niveaux de certains pesticides, notamment le métolachlore et l'atrazine sont particulièrement élevés dans cet environnement. Dans un second temps, l'analyse de la présence de trois peptides (ranatuerine 1, 2 et 6) a été faite par HPLC-MS-MS. Les biomarqueurs immunitaires suivis ont été : la viabilité, la phagocytose et la flambée oxydative à partir des cellules de la rate. Les résultats obtenus démontrent que le système immunitaire semble affecté par la présence de polluants. L'identification des peptides chez les ouaouarons révèle une diminution de la présence de certains peptides dans des milieux au niveau de pollution allant de moyen à élevé.

Session V : Toxicologie et Pharmacochimie

05.5

ÉVALUATION SPATIO-TEMPORELLE DES CONCENTRATIONS EN MÉTAUX LOURDS DANS LES MOULES BLEUES (*MYTILUS EDULIS*) DE LA BAIE DES CHALEURS, NOUVEAU-BRUNSWICK

¹Fraser, M.; ¹Surette, C. et ²Vaillancourt, C.

¹ Département de chimie et de biochimie, Université de Moncton, Moncton, Nouveau-Brunswick

² INRS-Armand-Frappier, Laval, Québec

Depuis les années '70, des concentrations élevées de plomb, cadmium et mercure ont été rapporté dans les sédiments et la biote provenant de sites industriels de la Baie des Chaleurs. Cependant, aucune étude sur l'état de la contamination des poissons à l'échelle de l'écosystème n'a pas été faite dans cette région. L'objectif de cette étude est d'établir un portrait spatio-temporel des concentrations en métaux lourds dans les moules de la Baie des Chaleurs. Durant l'été 2006 et 2008, nous avons échantillonné des moules bleues (*Mytilus edulis*) dans des sites répartis sur la côte néo-brunswickoise de la Baie des Chaleurs. Nos résultats montrent des niveaux de mercure et de plomb dans les moules échantillonnées dans les sites à proximité des industries dépassant la concentration maximale de 0,5 µg/g (w/w) permise pour la vente d'aliments. Les moules prélevées dans la région de Belledune contiennent jusqu'à quatre fois plus de cadmium (4,15 µg/g ww) et de zinc (41,5 µg/g ww) et jusqu'à 10 fois plus de plomb (28,9 µg/g ww) que dans les moules provenant des autres sites échantillonnés. Près de la chlor-alkali à Dalhousie, les concentrations en mercure (0,92 µg/g ww) dans les moules sont au moins 10 fois plus élevées que celles des autres sites échantillonnés. De plus, les concentrations de cadmium dans les moules échantillonnées en 2006 sont plus élevées que celles pêchées en 2008 dans tous les sites. Les concentrations des autres métaux sont comparables à celles rapportées dans d'autres régions du Canada.

Affiches

Session I : Immunologie

A1.1

MODIFICATION DE LA PROTÉINE DOK-1 SUITE À L'ACTIVATION DES MACROPHAGES AVEC DU LPS.

Álvarez de Celis, Héctor & Duplay Pascale.
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Trois membres de la famille des protéines Dok, Dok-1, Dok-2 et Dok-3 sont exprimés chez le macrophage. Les protéines Dok-1 et Dok-2 régulent de façon négative la réponse des macrophages au LPS (1). Nous souhaitons caractériser le mécanisme par lequel Dok1 et Dok2 régule les voies de signalisation initiées après stimulation du récepteur du LPS, TLR-4. Une étude récente a montré qu'à la fois Dok-1 et Dok-2 sont phosphorylés sur tyrosine après activation des macrophages par le LPS. Dans cette étude, les auteurs ont émis l'hypothèse que la protéine Dok-1 était rapidement dégradée puisque indétectable par l'anticorps monoclonal A3 après 30 min de stimulation avec du LPS. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons utilisé des anticorps dirigés contre différents domaines de la protéine Dok-1. Nous montrons que la protéine Dok-1 n'est pas dégradée mais est la cible d'une modification post-traductionnelle suite à la stimulation des cellules par le LPS, modification qui masque le site de reconnaissance de l'anticorps A3. À l'aide de tests de déphosphorylation par des phosphatases spécifiques, nous avons déterminé que la modification correspondait à une phosphorylation d'une ou de plusieurs tyrosines dans le domaine PTB de la protéine Dok-1. Nous planifions exprimer des protéines Dok-1 possédant des mutations ponctuelles ciblant spécifiquement les résidus modifiés suite à une stimulation LPS et tester fonctionnellement l'effet de ces mutations. Finalement la localisation de la protéine Dok-1 en microscopie confocale sera aussi réalisée. L'ensemble de ces résultats devrait nous permettre de clarifier le rôle des protéines Dok suite à l'activation des macrophages par le LPS.

A1.2

L'IMMUNISATION INTRANASALE DE SOURIS À L'AIDE D'ADJUVANTS À BASE DE PROTEOSOME TM ENGENDRE UNE DIFFÉRENTIATION DE LYMPHOCYTES Th17 DANS LES POUMONS.

¹Benoît Bélanger, ¹Véronique Allard, ²Martin Plante, ²David S. Burt et ¹Claude Daniel

¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

²GlaxoSmithKline Biologicals North America, Laval, QC, CA

Le paradigme cellulaire comprenant les lymphocytes Th1 et Th2 comporte maintenant un nouveau joueur, les lymphocytes Th17, qui sont des cellules T CD4+ productrices IL-17. Elles sont principalement connues pour avoir un rôle dans les maladies auto-immunes. De récentes études leur confèrent un rôle protecteur lors d'infections bactériennes et fongiques. Par contre, peu d'étude leur décerne une protection lors d'infections virales. Dans notre laboratoire, nous avons observé que les adjuvants à base de ProteosomeTM induisent une augmentation de l'expression génique, dans les poumons et les ganglions lymphatiques médiastinaux, de l'IL-17A, de l'IL-17F et de l'IL-21, et ce, 21 jours après l'immunisation. Dans les poumons, une population de cellules T produisant l'IL-17A est remarquée après une stimulation spécifique des cellules T chez les souris immunisées par les ProteosomeTM et ProtollinTM. Par contre, dans les ganglions lymphatiques médiastinaux et cervicaux, une production accrue d'IFN- γ ; est observée 21 jours après l'immunisation. De plus, il semblerait que la production de CXCL9, CXCL10, CXCL11 et CXCL13 soit dépendante de IL-17A, puisque chez des souris déficientes en IL-17A une diminution de l'expression, de ces chimiokines, est observée. Pris ensemble, nos résultats tendent à démontrer que les adjuvants à base de ProteosomeTM induisent une production IL-17A et régulent la migration de cellules T dans les poumons tandis que dans les ganglions, c'est principalement une réponse de type Th1 qui se produit.

Session I : Immunologie

A1.3

L'IMMUNISATION AVEC PROTEOSOME TM GÉNÈRE UNE RÉPONSE HUMORALE EFFICACE ET DE LONGUE DURÉE.

Isabelle Besson, Benoît Bélanger, Véronique Allard et Claude Daniel
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

La vaccination intranasale (i.n.) est une stratégie permettant d'induire une immunité mucoale en plus d'une immunité systémique. En utilisant la voie d'entrée naturelle de certains pathogènes des voies respiratoires, cette immunisation est considérée plus souhaitable qu'un vaccin parentéral. Il a été démontré que le système de libération d'antigènes et d'adjuvants Proteosome™, donné de façon i.n., pouvait générer une réponse adaptative spécifique de l'hémagglutinine (HA) et donc une protection contre le virus influenza. Ces travaux visent à comparer l'efficacité de la réponse humorale induite par Proteosome™ à d'autres adjuvants au niveau des titres d'anticorps et de leur persistance. Des souris BALB/c ont été immunisées par voie i.n. au jour 0 et 14 avec des antigènes seuls (sFlu), combinés à CpG ou avec Proteosome™. Après 21 jours, les sérums et lavages bronco-alvéolaires (BALF) ont été récupérés puis analysés par ELISA afin de mesurer la concentration d'IgG et d'IgA spécifiques aux HA. Parallèlement, du sang a été récolté à chaque deux semaines pendant 10 mois à partir de souris immunisées suivant le même protocole. Les IgG spécifiques ont ainsi été dosés. Les résultats montrent que Proteosome™ et CpG induisent des niveaux d'IgG similaires et supérieurs aux antigènes seuls, tant dans les sérums que dans les BALF. Les anticorps sériques spécifiques (IgG) persistent même au-delà de 38 semaines après l'immunisation avec Proteosome™ ou CpG. Les titres d'anticorps mesurés dans les BALF démontrent que les antigènes seuls ne sont pas suffisants pour induire une réponse humorale supérieure au control négatif (PBS) indiquant du même coup la nécessité de la présence des adjuvants dans l'immunité mucoale.

A1.4

ÉTUDE DES MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS L'APPARITION TARDIVE DES ANTICORPS NEUTRALISANTS CONTRE LE VIRUS DE LA CHORIOMÉNINGITE LYMPHOCYTAIRE.

Matthieu Daugan et Alain Lamarre
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Les infections virales persistantes sont un réel problème de santé publique. À l'échelle mondiale, les seuls virus du SIDA et des hépatites B et C représentent plus de 500 millions de cas. Une des particularités de ces infections est de présenter, contrairement aux infections aiguës, une apparition très tardive des anticorps neutralisants normalement là pour empêcher la dissémination des particules virales dans tout l'organisme. Le but de mes travaux est d'étudier les mécanismes impliqués dans ce retard dans le cadre d'une infection par un virus murin modèle des infections humaines persistantes : le virus de la chorioméningite lymphocytaire (LCMV). Deux hypothèses sont privilégiées dans mon projet :

- LCMV provoquerait un défaut de la maturation d'affinité, entraînant ainsi le retard dans l'apparition des anticorps neutralisants.
- L'IL-10 est fortement produite durant les infections persistantes et inhibe la réponse cellulaire, elle pourrait aussi avoir un effet identique sur la réponse humorale.

La 1ère hypothèse repose sur une analyse parallèle de l'affinité des anticorps dans le cadre d'infections à deux virus : LCMV et VSV (virus de la stomatite vésiculaire, aigu). Des souris sont infectées avec l'un ou l'autre des virus puis immunisées quelques jours après infection par une injection de nitrophenyl (NP). La réponse humorale montée contre le NP sera ensuite analysée à différents moments post-immunisation par prélèvement de sang sur lequel sera pratiqué un test ELISA contre le NP. Différentes d'affinités ou une apparition plus tardive dans le cadre de l'infection à LCMV par rapport à VSV tendrait à démontrer l'exactitude de notre hypothèse. La 2ème hypothèse est basée sur l'analyse de la production d'anticorps neutralisants dans le cadre d'une infection en l'absence d'IL-10. Des souris IL-10 KO et C57BL/6 sont infectées avec LCMV Clone 13 (persistant) ou Armstrong (non persistant), une apparition plus rapide des anticorps neutralisants ou une perte de la persistance chez les souris KO infectées avec Cl13 permettrait de valider l'hypothèse de travail. Mieux comprendre les mécanismes de persistance dans un modèle murin permettrait d'augmenter notre savoir des virus humains et ainsi déboucher sur des avancées en matière de traitements.

Session I : Immunologie

A1.5

IMMUNOGÉNÉICITÉ COMPARITIVE CHEZ LA SOURIS DE LA PROTÉINE VP8::VP5DC-TERM DU ROTAVIRUS DÉLIVRÉE PAR UNE COMBINAISON D'ADENOVECTEUR ET PLASMIDE.

¹Girard A., ¹St-Louis M.-C., ²Massie B., ¹Archambault D.

¹Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Montréal, Québec, Canada;

²Institut de recherche en biotechnologie, Conseil national de recherche du Canada, Montréal, Québec, Canada

La majorité des agents pathogènes microbiens ont comme voie d'entrée d'infection les muqueuses, notamment intestinale et respiratoire, d'où l'intérêt de développer des vaccins mucosaux afin de les contrer. Le rotavirus, agent majeur partout dans le monde de la diarrhée d'individus en bas âge chez l'homme et les animaux, fut sélectionné comme modèle d'infection intestinale en ayant comme objectif de développer des vaccins sous-unitaires à base d'adénovecteurs (AdVs). Dans cette optique, les immunogènes VP8* et VP5* du rotavirus humain furent sélectionnés pour générer une réponse immunitaire protectrice. La séquence vp8::vp5Dc-term a été optimisée (usage des codons) et synthétisée pour son expression dans les cellules de mammifères. La protéine VP8::VP5Dc-term délivrée par des AdVs réplcatifs mais non disséminatifs et le plasmide pcDNA3.0 a été exprimée dans des cellules de mammifères. Cette expression a été confirmée en immunofluorescence indirecte et en immunoblot. Suite à une première étude in vivo chez la souris visant à comparer différents régimes d'immunisations, la combinaison AdVs et des rappels avec le plasmide s'est révélée la meilleure en terme de génération d'anticorps sériques spécifiques au rotavirus comparativement à des régimes à base d'un seul vecteur. De plus cette réponse est maximale après un seul rappel. Une deuxième étude a permis de mettre en évidence que non seulement la protéine VP8::VP5Dc-term délivrée par la combinaison AdV/plasmide génère une réponse humorale qui a la capacité de neutraliser le rotavirus in vitro, mais aussi une réponse cellulaire par la prolifération spécifique des splénocytes.

A1.6

PROTEOSOME TM INDUIT UNE PRÉSENTATION ANTIGÉNIQUE PLUS STABLE DANS LE TEMPS.

Alexandre Roby, Véronique Allard et Claude Daniel

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

ProteosomeTM est un système de libération d'antigènes et d'adjuvants complexé sous forme de micro vésicules administrables par voie intranasale dans un contexte de vaccination. ProtollinTM, qui est un ProteosomeTM dont l'antigène associé est le LPS, permet également d'induire une réponse immune spécifique lorsque combiné à des antigènes solubles. Ce projet a pour but de déterminer si l'immunité mucoale induite par les systèmes ProteosomeTM/ProtollinTM se traduit en une meilleure présentation antigénique, en utilisant un modèle d'immunisation contre l'hémagglutinine (HA) du virus influenza. Pour ce faire, des souris BALB/c ont été immunisées avec les antigènes seuls ou en combinaison avec différents adjuvants sur une période variant de 2 à 72 heures. Les tissus lymphoïdes associés au nasopharynx (NALTs), poumons et ganglions drainants respectifs (cervicaux et médiastinaux) ont été récoltés puis analysés pour déterminer la présentation de peptides dérivés de HA. Parallèlement, l'expression des marqueurs d'activation CD86 et CMH-II présents sur les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) professionnelles a été analysée par PCR en temps-réel (qRT-PCR). Nous avons démontré que la présentation antigénique en présence de ProteosomeTM et ProtollinTM s'effectuait principalement dans les ganglions drainants les poumons (g.médiastinaux) tôt après l'immunisation et persistait au-delà de 72h, contrairement à une immunisation avec CpG ou avec les antigènes seuls. De plus, nous avons remarqué que la présentation antigénique induite par ProteosomeTM montre une meilleure stabilité dans le temps qu'une immunisation avec ProtollinTM. Ainsi, malgré une réponse précoce plus forte par ce dernier, sa formulation avec l'antigène soluble, non complexée à l'adjuvant, reflèterait une présentation antigénique moins efficace à long terme. Nos résultats par qRT-PCR ont démontré qu'une forte expression de CD86 et de CMH-II s'effectuait aussitôt que 2h dans les NALT et que 12h dans les poumons après l'immunisation avec ProteosomeTM ou ProtollinTM. Ces résultats suggèrent que l'activation des CPA s'effectue localement et aussitôt que 2h post-immunisation avec ProtollinTM mais que la présentation antigénique se produirait surtout dans les ganglions médiastinaux, possiblement suite à la migration des CPA dans ces organes lymphoïdes.

Session I : Immunologie

A1.7

DÉVELOPPEMENT DE VECTEURS VACCINAUX À BASE D'ADÉNOVIRUS RECOMBINANTS POUR LE CONTRÔLE DU VIRUS DU SYNDROME REPRODUCTEUR ET RESPIRATOIRE PORCIN.

¹E. Roques, ¹W. Saron, ¹M.-C. St-Louis, ^{2,5}B. Massie, ^{3,5}C. A. Gagnon, ^{4,5}M. Lessard, ^{1,5}D. Archambault.

¹Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, Qc, Canada;

²Institut de Recherche en Biotechnologie, Montréal, Qc, Canada;

³Département de pathologie et de microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, St-Hyacinthe, Qc, Canada;

⁴Centre de recherche et de développement sur le bovin laitier et le porc, Lennoxville, Qc, Canada;

⁵Centre de Recherche en Infectiologie Porcine (CRIP), St-Hyacinthe, Qc, Canada.

Le virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcine (VSRPP) est responsable de pertes économiques très importantes dans l'industrie porcine. À l'heure actuelle, les vaccins commerciaux disponibles permettent seulement une protection partielle contre le VSRPP. Cette étude, basée sur l'induction d'une immunité mucoale et systémique, propose une alternative aux procédures vaccinales utilisées jusqu'à présent. Des adénovecteurs répliatifs mais non disséminatifs ont été générés afin de produire des protéines d'intérêt. Ces protéines sont la glycoprotéine d'enveloppe GP5, connue pour induire une réponse en anticorps neutralisants, en fusion ou non avec la protéine de matrice M (M:GP5), connue pour augmenter l'activité neutralisante de la GP5. Une fusion entre la protéine M et une variante de la GP5 (M:GP5m) a été aussi générée. Un essai préliminaire d'immunisation chez des porcelets a été réalisé. Les adénovecteurs exprimant les protéines de choix ont été administrés simultanément par voie nasale et intramusculaire. Une analyse par ELISA des anticorps spécifiques dirigés contre la GP5 présents dans le sérum a permis de démontrer que les adénovecteurs exprimant les protéines M:GP5 et M:GP5m permettaient d'induire une bonne réponse en anticorps. Cette réponse était meilleure et plus rapide dans le cas des immunisations réalisées avec la M:GP5m. Des analyses supplémentaires sont en cours afin de caractériser la réponse en anticorps neutralisants ainsi que la réponse mucoale induite.

A1.8

L'AJOUT DE NUCLÉOCAPSIDES RECOMBINANTES DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DE LA PAPAYE (PapMV) AU VACCIN CONVENTIONNEL CONTRE L'INFLUENZA (CIV) CONFÈRE UNE PROTECTION LORS D'UNE INFECTION HÉTÉROLOGUE CHEZ LA SOURIS.

¹Christian SAVARD, ¹Annie GUÉRIN, ¹Karine DROUIN, ¹Marie-Christine DUMAS, ¹Marilène BOLDUC, ¹Marie-Eve LALIBERTÉ-GAGNÉ, ¹Nathalie MAJEAU et ¹Denis LECLERC.

¹Centre de Recherche en Infectiologie, Pavillon CHUL, Université Laval.

Les infections causées par le virus de l'influenza sont un problème majeur de santé publique, ici au Québec et partout à travers le monde. La principale méthode de prévention contre ces infections demeure encore aujourd'hui la vaccination. Les vaccins traditionnels contre le virus de l'influenza sont efficaces dans la mesure où la souche vaccinale ne présente pas de grandes différences avec la souche circulante. Dans le cas contraire, l'efficacité du vaccin chute dramatiquement. L'inefficacité des vaccins conventionnels contre les souches hétérologues est le principal argument illustrant la nécessité d'améliorer les vaccins actuels. Le principal moyen d'y parvenir passe par l'ajout d'adjuvant permettant une augmentation de la réponse immune envers les différents constituants du vaccin, de préférence contre les protéines conservées. L'objectif principal de cette étude est de mesurer l'effet immunologique de l'ajout d'un nouvel adjuvant expérimental, la nucléocapside recombinante du virus la mosaïque de la papaye (PapMV rNLPs) au vaccin inactivé. Dans un premier temps, nous avons observé une augmentation significative de l'immunogénicité des différentes composantes du vaccin, entre autre envers la nucléoprotéine (NP) et la protéine de la matrice 1 (M1) les protéines les mieux conservées du virus. Ensuite, nous avons vérifié l'effet protecteur de cette immunité par l'infection de souris vaccinées avec une souche hétérologue non comprise dans la formulation vaccinale, et ce pour les saisons vaccinales 2007-2008 et 2008-2009. Il s'est avéré, lors de ces expériences, que les souris ayant reçu l'adjuvant avaient une meilleure résistance à l'infection, avec une atténuation importante des symptômes, et ce, même 10 semaines après la vaccination, ce qui laisse supposer une certaine forme de mémoire immunologique. Finalement, nous avons également tenté d'identifier les mécanismes immunologiques importants pour l'effet protecteur observé.

Session I : Immunologie

A1.9

D'UNE INFECTION RESPIRATOIRE A UNE PATHOLOGIE DÉMYÉLINISANTE : UN ROLE IMPORTANT POUR LA PROTEINE DE SURFACE DU CORONAVIRUS HUMAIN OC43.

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

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

La sclérose en plaques (SEP) est une maladie multifactorielle d'étiologie inconnue du système nerveux central (SNC), affectant deux millions de personnes dans le monde. Elle résulte en une destruction de la myéline enrobant les fibres nerveuses, qui joue un rôle dans la transmission des influx nerveux. Les coronavirus humains sont des pathogènes respiratoires mais notre laboratoire a démontré que la souche OC43 est neurotrope, neuroinvasive et neurovirulente. Suite à une infection persistante de cellules neurales humaines, 4 mutations prédominantes sont apparues dans le gène codant la protéine virale de surface : D24Y, S83T, H183R, Y241H. Afin de caractériser leur rôle biologique, celles-ci ont été introduites dans le clone infectieux, désigné rOC/US24-241. Tandis que l'infection de souris par le virus recombinant rOC43/ATCC (souche prototype) a induit une encéphalite, rOC/US24-241 a provoqué une paralysie des membres inférieurs avec des lésions de démyélinisation dans la moelle épinière. L'hypothèse du projet étant qu'une ou plusieurs de ces mutations sont suffisantes pour induire la pathologie démyélinisante, les 4 mutations ont été introduites une à la fois dans le clone infectieux. Nos résultats indiquent que la mutation Y241H est suffisante pour induire des déficits moteurs typiques d'une paralysie chez la souris. Nous évaluerons la présence de démyélinisation et ferons la caractérisation des mécanismes associés. Les dommages axonaux seront étudiés en évaluant l'état de phosphorylation anormale de protéines du cytosquelette et les dommages aux oligodendrocytes (cellules formant la gaine de myéline) seront évalués à l'aide de fluoromyéline et d'un anticorps anti-CNPase (marquage des prolongements de myéline et des corps cellulaires). Des mécanismes de neuroinflammation pouvant mener à une démyélinisation seront évalués en mesurant l'activation des cellules gliales et les molécules inflammatoires produites ainsi que l'infiltration de cellules immunitaires au SNC. Ce projet permettra de caractériser les interactions entre un virus respiratoire ayant des propriétés neuroinvasives et le SNC, résultant en une pathologie typique de la SEP (Subventionné par l'IMII des IRSC).

A1.10

LE STADE AMASTIGOTE DU PARASITE *LEISHMANIA DONOVANI* INHIBE LES RÉPONSES À L'IFN- γ ; EN BLOQUANT L'INTERACTION DE STAT1 AVEC L'IMPORTINE- α 5

Christine Matte et Albert Descoteaux

INRS-Institut Armand-Frappier et Centre de recherche sur les interactions hôte-parasite, Laval, QC

L'interféron (IFN)- γ ; induit de profonds changements fonctionnels chez le macrophage, incluant l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II et l'acquisition de propriétés microbicides. La voie des Janus kinases (JAK) et du transducteur de signal et activateur de transcription STAT1 joue un rôle central dans l'induction de ces réponses, et représente donc une cible idéale pour les agents pathogènes ayant un style de vie intracellulaire. Les parasites protozoaires du genre *Leishmania* sont reconnus pour leur capacité à altérer les voies de signalisation et les mécanismes antimicrobiens de leur cellule-hôte, le macrophage. Il a précédemment été démontré que le stade amastigote de *L. donovani*, agent responsable de la leishmaniose viscérale, inhibe l'expression du CMH II chez le macrophage en réponse à l'IFN- γ . Cependant, les mécanismes sous-jacents demeurent inconnus. L'objectif principal de ce projet de recherche était donc de vérifier l'impact du stade amastigote de *L. donovani* sur la voie JAK-STAT1 et sur les événements de transcription qui en découlent. Pour ce faire, nous avons stimulé à l'IFN- γ des macrophages murins dérivés de la moelle osseuse, infectés ou non avec des amastigotes de *L. donovani*. Nos résultats démontrent que l'induction par l'IFN- γ de l'expression du CMH II, du transactivateur de classe II (CIITA) de type IV, de la synthétase d'oxyde nitrique inducible (iNOS) et du facteur régulateur de l'IFN (IRF)-1 est fortement diminuée en présence d'amastigotes de *L. donovani*. L'expression ou l'activation par l'IFN- γ du facteur de transcription STAT1, responsable de l'induction de ces gènes, ne sont pas affectées chez les macrophages infectés. En revanche, le stade amastigote de *L. donovani* inhibe la translocation de STAT1 au noyau en réponse à l'IFN- γ en empêchant son interaction avec l'adaptateur de transport nucléaire importine- α 5. De plus amples recherches seront nécessaires afin de déterminer le mécanisme par lequel les amastigotes interfèrent avec ces événements. En conclusion, ces travaux offrent une meilleure compréhension des stratégies employées par *Leishmania* pour échapper aux réponses immunitaires de l'hôte.

Session I : Immunologie

A1.11

DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE DE VACCIN INNOVATEUR, À BASE DE PROTÉINES RECOMBINANTES, CONTRE LE VIRUS DE L'ANÉMIE INFECTIEUSE DU SAUMON (AIS)

^{1,2}Mélanie Roy, ^{1,2}Mark Laflamme, ³Kira Saloni, ³Nathalie C. Simard, ¹Mélanie Robichaud-Haché, ²Gilles A. Robichaud, ^{1,2}Nellie Gagné.

¹Department of Fisheries and Oceans, Gulf region, Moncton, NB(Canada).

²Département de chimie et biochimie, Campus de Moncton, Université de Moncton, Moncton, NB (Canada).

³Novartis Animal Health Canada, Inc., Aqua Health Business Unit, Victoria, PE (Canada)

Le virus de l'AIS est un pathogène très important par les dommages qu'il cause dans les fermes d'élevages de saumons en aquaculture, et par la perte de milliers de dollars en revenus. Quoiqu'il existe un vaccin commercial contre le pathogène, celui-ci n'est pas efficace à 100 %. Les vaccins à base de protéines recombinantes sont basés sur l'expression d'une ou plusieurs protéines virales, produisant une réaction immunitaire ressemblant à celle engendrée par le virus, mais ne comportant aucun risque d'infection. Les protéines de choc thermique (HSPs) sont des molécules intracellulaires induites lorsque la cellule subit un stress environnemental intense. Ces molécules agissent comme chaperonnes, ayant un rôle dans l'assemblage, le repliement et le transport des protéines. De plus, elles participent à la présentation de peptides à la surface des cellules, et donc à l'activation de la réponse immunitaire. En effet, certaines recherches ont démontré une efficacité accrue des complexes peptide-HSPs dans la formation de vaccin contre certains cancers et organismes intracellulaires. Le but de cette recherche est donc de produire un vaccin innovateur contre le pathogène responsable de l'AIS. Plus précisément, nous allons produire des protéines recombinantes du virus de l'AIS dans des lignées cellulaires de poisson, et induire une production optimale d'HSPs dans ces cellules transfectées, afin d'optimiser les ratios pour la formation de complexes peptides-HSP pour un vaccin. En bref, cette étude démontre l'expression d'une protéine de fusion du virus dans une lignée cellulaire de poisson. De plus, des conditions optimales pour l'expression des HSPs ont été déterminées en soumettant les cellules transfectées à un choc thermique. Les éléments sont presque tous réunis pour nous permettre de tester ce modèle de vaccin à base de protéines. Cette recherche est importante, car elle pourrait permettre de développer un vaccin ayant un potentiel d'immunisation supérieur au vaccin traditionnel et donc de supporter l'industrie dans sa lutte contre le virus.

A1.12

IL-4R α , A NEW MEMBER THAT ASSOCIATES WITH SYK KINASE: IMPLICATION IN IL-4- INDUCED HUMAN NEUTROPHIL FUNCTIONS.

Jamila Ennaciri, Denis Girard.

INRS-Institut Armand-frappier, Laval, QC.

Although Syk has been reported to be associated with IL-2R α and IL-15R α in some hematopoietic cells, its association has never been investigated in the IL-4/IL-4R system. Here, we demonstrate for the first time that Syk is constitutively associated with IL-4R α in human PMNs and that IL-4 stimulation increases the amount of Syk associated with IL-4R α . Moreover, upon IL-4 treatment, a pool of Syk associated with IL-4R α is phosphorylated. We also report that such association is not unique to PMNs since Syk associates with IL-4R α in Raji and in PBMC cells. Stimulation of PMNs by IL-4 increased the amount of Syk associated with PLC- β 2, pAkt and α -tubulin. Pre-treatment of cells with the Syk-selective inhibitors piceatannol or Syk inhibitor II significantly inhibited the ability of IL-4 to enhance phagocytosis, cell adhesion and to delay apoptosis and these results correlate with the ability of piceatannol and Syk inhibitor II to reduce Syk activation and its association with IL-4R α . Downregulation of Syk by antisense techniques demonstrates the importance of Syk in the antiapoptotic effect of IL-4. We conclude that association of Syk to IL-4R α is of biological significance and that IL-4R α is a new candidate to be added to the few cytokine receptor components which associate with Syk.

Session I : Immunologie

A1.13

LES ANTICORPS NATURELS DANS LE DÉVELOPPEMENT DE L'IMMUNITÉ ANTIVIRALE: IMPORTANCE DE LA DIVERSITÉ DU RÉPERTOIRE.

T Charpentier, I Meunier, M Bigras, E Tarrab et A Lamarre.
INRS-Institut Armand-frappier, Laval, QC.

Au cours des dernières décennies, des études ont démontrées qu'une interaction entre les systèmes immunitaires inné et adaptatif est essentielle pour développer une réponse immunitaire efficace. Les anticorps naturels (AcNat) sont des éléments essentiels de la réponse immunitaire innée dirigée contre les pathogènes sanguins. Ils sont majoritairement d'isotype IgM et offrent une protection immédiate et à large spectre contre des infections virales et bactériennes par la formation de complexes-immuns. Ces derniers facilitent le recrutement des particules infectieuses aux organes lymphoïdes secondaires, facilitant potentiellement l'initiation d'une réponse immunitaire spécifique. Puisque la majorité des études sur le rôle des AcNat ont été effectuées avec des souris de type sauvage ou déficientes en anticorps, nous allons évaluer l'impact de la diversité de répertoire des AcNat sur l'initiation de réponses immunitaires spécifiques. Dans cette étude, des souris présentant diverses lacunes au niveau de la diversité du répertoire primaire des lymphocytes B seront infectées soit avec les virus de la stomatite vésiculaire (VSV) ou de la chorioméningite lymphocytaire (LCMV). Nous démontrons que dans les étapes précoces d'une infection, les souris ayant un répertoire d'AcNat diversifié recrutent plus efficacement les particules virales à la rate, comparativement aux souris au répertoire limité. Le transfert passif d'IgM naturels purifiés de souris sauvages récupère la capacité de recrutement de particules virales à la rate à des niveaux similaires aux souris sauvages. La capacité des cellules dendritiques à préparer et présenter des antigènes viraux aux lymphocytes T LCMV-spécifiques est supérieure dans les souris sauvages par rapport aux souris déficientes en AcNat. Les souris ayant un répertoire restreint d'AcNat développent une réponse antivirale spécifique moins efficace que les souris sauvages au sommet de la réponse immunitaire contre LCMV. Mis en commun, ces résultats suggèrent que la diversité de répertoire des AcNat influence le recrutement des particules virales aux organes lymphoïdes secondaires, influençant conséquemment la présentation antigénique et l'initiation de réponses antivirales. Recherches financées par les IRSC et la Fondation J-Louis Lévesque

A1.14

CARACTÉRISATION DU RÔLE DE LA PROTÉINE V DU CDV DANS L'IMMUNOSUPPRESSION MORBILLIVIRALE

¹C. Goncalves, ¹N. Svitek, ¹V. von Messling
¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC.

La protéine accessoire V des virus du genre *morbillivirus* est un facteur de virulence important dans l'immunosuppression observée durant l'infection *morbillivirale*. Le virus de la rougeole (MeV) code une protéine V capable d'interférer avec les protéines STATs ainsi que l'ARN hélicase MDA5 mais l'importance de ces interactions dans la pathogénèse reste encore inconnue. L'infection du virus de la maladie de Carré (CDV) chez son hôte naturel conduit à l'apparition de signes cliniques identiques à ceux de MeV. Nous étudions ainsi l'importance de l'interférence de la protéine V de CDV dans l'établissement de la réponse immunitaire innée pour le développement d'une infection létale chez le furet. Dans un premier temps, nous avons recherché les acides aminés de la protéine V nécessaires pour inhiber une réponse immunitaire innée. Des mutations de V produites par la méthode « alanine scanning » ont été utilisées dans lors de tests luciférase pour caractériser leurs effets sur l'induction de la voie des interférons de type I et II, la voie NF-κB et la voie Mx. Nous avons alors délimité une région de 10 acides aminés au sein de la protéine V capitale dans l'inhibition de la voie des interférons de types I et la voie Mx. Dans un second temps, nous avons regardé si l'infection par le CDV modulait l'expression des complexes majeurs d'histocompatibilité de classe I (CMHI) et II (CMHII) à la surface de PBMCs de furets. Des furets ont été infectés avec la souche létale 5804PeM codant pour la protéine eGFP située dans un cadre de lecture supplémentaire entre les gènes P et M pour faciliter l'analyse des cellules infectées. Les PBMCs ont été isolés deux fois par semaines pendant les 14 premiers jours de l'infection puis marqués à l'aide d'anticorps dirigés contre les MHCI ou MHCII pour être analysés par cytométrie de flux. Nous avons remarqué au cours de l'infection que la présence de MHCII sur les cellules infectés à jour 7 post infection disparaît à jours 12 post tandis que l'expression de MHCI reste inchangée. En conclusion, nous avons déterminé d'une part l'importance d'une région de la protéine V de CDV sur la voie des interférons de type I et la voie Mx et d'autre part une modulation de l'expression des CMHII lors de l'infection du CDV chez le furet.

Session II : Microbiologie

A2.15

IDENTIFICATION DES FACTEURS PERMETTANT L'OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DE *BEAUVERIA BASSIANA*.

Narin Srei et Claude Guertin

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Beauveria bassiana est un candidat intéressant pour la lutte microbiologique. Plusieurs isolats, notamment INRS-IP et INRS-CFL, sont utilisés pour contrôler les insectes nuisibles forestiers et agricoles. Afin de répondre aux besoins de conidies lors de l'application sur le terrain de *B. bassiana*, une optimisation des conditions de production à grande échelle doit être considérée. Deux isolats de *B. bassiana* (INRS-IP & INRS-CFL) ont été choisis pour cette étude. Ce sont des isolats indigènes de Québec. L'isolat INRS-IP a été extrait à partir de doryphore de la pomme de terre, *Leptinotarsa decemlineata*, de l'Île Perrot de Québec et INRS-CFL a été extrait du grand hylésine du pin, *Tomicus piniperda*, à Québec. Ces deux isolats ont été conservés dans la banque des champignons du laboratoire d'entomopathogène de l'Institut Armand-Frappier (dans 70% de glycérol à -80°C). L'orge a été utilisée comme milieu de culture durant les études de la production de ces deux isolats. Des facteurs influençant à la production ont été évalués sur la base de l'analyse factorielle de type Plackett-Burmen et la méthodologie de la surface de réponse de type Central Composite Design ont été utilisées pour l'étape d'optimisation de la production. Les variables mesurées sont la concentration des conidies par mL et le volume total récolté (mL). Les résultats de l'analyse factorielle de Plackett-Burmen à partir des deux isolats de *B. bassiana* ont permis d'identifier certains facteurs environnementaux tels que la température et la lumière et des facteurs nutritifs tels que la peptone, la chitine et l'extrait de levure influençant la production des conidies. Les résultats ont démontré que aussi démontré que chaque isolat avait des besoins spécifiques même s'ils sont dans la même espèce. L'analyse de la surface de réponse, *Central Composite Design*, a fourni des indications sur les valeurs des facteurs sélectionnés permettant la production optimale de chacun des deux isolats. Les résultats ont démontré que le volume optimal récolté et la concentration optimale des conidies dans un mL de chacun des deux isolats requièrent différemment des quantités des substances nutritives et des niveaux des facteurs environnementaux.

A2.16

DIVERSITÉ DES BACTÉRIES DÉNITRIFIANTES MÉTHYLOTROPHES D'UN BIOFILM ÉLIMINANT LES NITRATES EN EAU SALÉE AU BIODÔME DE MONTRÉAL.

¹Julie Auclair, ²Serge Parent, ¹Richard Villemur

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

²Biodôme de Montréal, Montréal, Québec.

Le Biodôme de Montréal opère un réacteur à lit fluidisé pour éliminer les nitrates d'un aquarium de 3,25 millions de litres d'eau salée représentatif de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent. Un biofilm microbien est responsable de l'activité de dénitrification. Afin de maintenir l'activité de dénitrification, du méthanol est ajouté comme source de carbone. Depuis 2000, le laboratoire du Dr. Villemur étudie la microbiologie du biofilm dénitrifiant qui sert de modèle à l'étude de la dénitrification en eau salée. Les études antérieures réalisées sur le biofilm ont fourni une description des populations bactériennes sans apporter d'indice sur leur fonctionnalité. La technique du *stable isotope probing* a été employée pour identifier les bactéries responsables de l'utilisation du méthanol et de la dénitrification. Le biofilm a été incubé dans de l'eau de mer artificielle en absence d'oxygène mais en présence de nitrate. Du (¹³C)-méthanol a été ajouté comme seule source de carbone. Les microorganismes assimilant le méthanol incorporent dans leur ADN du ¹³C ayant pour effet d'augmenter sa densité par rapport à l'ADN non marqué. L'ADN marqué au ¹³C a été séparé de l'ADN non marqué par ultracentrifugation en gradient de densité. Une librairie du gène de l'ARN ribosomal (ARNr) 16S a été réalisée à partir de l'ADN récupéré dans les fractions de haute densité du gradient. L'analyse de la librairie a démontré que 89% des séquences obtenues étaient affiliées au *Methylophaga sp.* Ces bactéries méthylophages ont été caractérisées comme étant aérobie stricte. Afin de confirmer leur rôle dans le biofilm, les bactéries affiliées à *Methylophaga sp.* ont été isolées en étalant le biofilm sur différents milieux. Deux souches, *IAFJAisoM1* et *IAFJAisoM7*, dont les séquences du gène de l'ARNr 16S sont affiliées à 96% à *M. alcalica* et *M. murata* ont été obtenues. La capacité d'*IAFJAisoM1* et *IAFJAisoM7* à utiliser le nitrate en condition dénitrifiante a été testée. Les résultats ont montré qu'*IAFJAisoM1* réduit le nitrate en nitrite en condition dénitrifiante. Ces travaux démontrent pour la première fois l'implication de bactéries affiliées à *Methylophaga sp.* dans l'utilisation du nitrate en absence d'oxygène.

Session II : Microbiologie

A2.17

EFFET SYNERGIQUE D'HUILES ESSENTIELLES COMBINÉES À LA NISINE CONTRE LES BACTÉRIES PATHOGÈNES D'ORIGINE HUMAINE ET ALIMENTAIRE.

Mélanie Turgis, Claude Dupont, Monique Lacroix
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Avec le développement des infections nosocomiales et des toxi-infections, il est nécessaire de trouver de nouvelles approches dans les traitements thérapeutiques et dans les nouvelles technologies reliées à la conservation des aliments. L'objectif de cette étude est de déterminer le potentiel antimicrobien de certains composés naturels tels que les huiles essentielles (origan, cannelle, moutarde, thym rouge, sarriette, citronnelle) combinées avec une bactériocine, la nisine, contre un large spectre de souches pathogènes provoquant des infections alimentaires ou nosocomiales. Méthodes : L'activité antimicrobienne des huiles essentielles et de la bactériocine a été déterminée dans un premier temps séparément puis en combinaison. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque composé contre les dix-huit bactéries pathogènes d'origine alimentaire et humaine, en microplaque 96 puits. La technique de l'échiquier a été utilisée pour tester la combinaison des huiles en présence de nisine contre chaque pathogène. Résultats: Une combinaison synergique en présence de nisine a été observée avec l'origan contre *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, avec la cannelle contre *Enterococcus faecalis* et ERV, avec le thym rouge contre *Enterococcus faecalis* et *Salmonella typhimurium*, et avec la sarriette contre *Salmonella enterica*. En revanche, la combinaison nisine-cannelle a montré un effet additif contre la majorité des bactéries telles que *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* FKS4A et FKS7M, *pseudomonas putida*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, et *Stenotrophomonas malophilis*. D'autre part, les combinaisons nisine-origan et nisine-cannelle ont démontré un effet antagoniste contre *Bacillus*, et la combinaison, de même que nisine-moutarde contre MRSA et nisine-thym rouge contre *Pseudomonas putida*. Conclusion: Une grande partie des huiles essentielles ont présenté une activité inhibitrice significativement plus élevée contre les pathogènes alimentaires et nosocomiaux lorsque combinées à la nisine, avec un effet synergique ou additif. Impact de l'étude : Cette étude montre le potentiel antimicrobien des composés naturels utilisés en combinaison afin de mieux contrôler les pathogènes.

A2.18

MISE AU POINT D'UN BIOPROCÉDÉ À DEUX PHASES LIQUIDES POUR LA DÉGRADATION DE MODULATEURS ENDOCRINIENS.

Julianne Ouellette, Germain Lacoste-Caron, Silvia Santos, Éric Déziel, Pierre Juteau, François Lépine, Réjean Beaudet, Richard Villemur
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Les modulateurs endocriniens (ME) sont des molécules capables d'altérer les fonctions du système endocrinien et de générer par le fait même des effets irréversibles sur la santé des organismes. Ce type de composé origine de sources naturelles et industrielles. Au fil des années, les industries ont été identifiées comme principales contributrices du problème en polluant par leurs activités, les cours d'eau avec ce type de molécules. La problématique à laquelle nous faisons face aujourd'hui est que les systèmes de traitement des eaux actuels sont incapables d'éliminer ces composés des eaux usées dues à leur faible concentration (ng/L à µg/L). Le but de ce projet est de développer un système à deux phases liquides qui permettront d'extraire, de concentrer et de dégrader deux familles de ME couramment retrouvés dans les eaux usées c'est-à-dire les œstrogènes et les alkylphénols. Le système à deux phases liquides consiste en : une phase aqueuse comprenant un consortium bactérien et une phase hydrophobe présentant une affinité pour les composés à l'étude. Présentement, deux différentes phases hydrophobes sont étudiées : l'huile de silicone et l'hytrel. De nombreux enrichissements sont en cours dans le but de sélectionner un consortium capable d'utiliser les modulateurs à l'étude comme principale source de carbone. La diversité d'un de ses enrichissements a également été analysée par séquençage du gène de l'ARN ribosomal 16S. Cette analyse a permis de révéler la présence de bactéries appartenant au genre *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Microbacterium* et *Rhodanobacter*. Une méthode analytique utilisant la chromatographie en phase gazeuse combinée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a été mise au point. Cette dernière nous permet de suivre la dégradation des ME. Des méthodes d'extraction telle que l'extraction en phase solide (EPS) ont été développées afin d'extraire les composés à l'étude des phases hydrophobes. Ces méthodes d'extraction combinées à la technologie du GC-MS vont nous aider à déterminer laquelle des phases hydrophobes à l'étude favorise la meilleure croissance bactérienne tout en permettant la solubilité maximale des modulateurs.

Session II : Microbiologie

A2.19

LA POMPE À EFFLUX MexEF-OprN DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA EXPORTE LA MOLÉCULE DE COMMUNICATION INTERCELLULAIRE 4-HYDROXY-2-HEPTYLQUINOLINE (HHQ)

Martin G. Lamarche, Ludovic Vial, Julien Tremblay, François Lépine et Eric Déziel
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

La bactérie pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa* est la cause d'infections chroniques chez les personnes atteintes de la fibrose kystique (FK). De plus, *P. aeruginosa* est naturellement très résistante aux antimicrobiens, ce qui rend l'antibiothérapie souvent inefficace. Les pompes à efflux sont des déterminants majeurs de la résistance aux antibiotiques chez cette bactérie. Elles permettent la résistance simultanée à différentes classes d'antibiotiques. La pompe à efflux MexEF-OprN promeut la résistance au chloramphénicol, au triméthoprime, au triclosan et aux fluoroquinolones. L'expression continue de l'opéron mexEF-oprN est observée chez des mutants de mexS, gène dont la fonction est inconnue. Une mutation dans mexS affecte aussi les mécanismes de quorum sensing (QS), c'est-à-dire de communication intercellulaire. Le QS contrôle l'expression de facteurs de virulence et la formation de biofilms, observées dans les voies respiratoires des personnes atteintes de FK. Le QS est contrôlé par des régulateurs transcriptionnels qui, pour être actifs, doivent être couplés à de petites molécules signales nommées auto-inducteurs. Alors que la population bactérienne se densifie, les auto-inducteurs s'accumulent dans le milieu extracellulaire jusqu'à atteindre une concentration-seuil, à laquelle le "quorum" est atteint. MvfR est un régulateur du QS et contrôle l'expression de plusieurs gènes importants pour la virulence, dont ceux de l'opéron *pqsABCDE*, impliqués dans la biosynthèse des 4-hydroxy-2-alkylquinolines (HAQ). Un auto-inducteur associé à MvfR est le 3,4-dihydroxy-2-heptylquinoline (PQS; *Pseudomonas* Quinolone Signal). L'enzyme PqsH est responsable de la synthèse du PQS et utilise un HAQ, le 4-hydroxy-2-heptylquinoline (HHQ), comme substrat. Étrangement, la quantité de PQS produit par les mutants mexS est substantiellement réduite. Afin de mieux comprendre l'influence de cette mutation sur les HAQ, nous avons quantifié leurs concentrations par LC-MS/MS chez la souche parentale PA14 et son mutant isogénique mexS. Cette expérience fut effectuée en absence ou présence d'inhibiteurs des pompes à efflux. De plus, le niveau d'expression de plusieurs gènes du QS fut déterminé grâce à des fusions transcriptionnelles entre les régions promotrices des gènes à l'étude et le gène rapporteur lacZ. Mis ensemble, nos résultats démontrent que c'est l'exportation du HHQ par MexEF-OprN qui cause le déficit en PQS. Puisque des souches qui surexpriment mexEF-oprN sont défectueuses pour le QS et moins virulentes, il serait intéressant d'identifier de nouvelles molécules à potentiel thérapeutique qui permettrait de moduler l'activité de la pompe MexEF-OprN. Cela pourrait faciliter le traitement des infections pulmonaires à *P. aeruginosa*.

A2.20

LE COMPLEXE ENTOMOPATHOGÈNE DANS LES VERGERS À GRAINS DU QUÉBEC.

Galen Guo

INRS - institut Armand-Frappier, Laval, Qc

Les vergers à grains au Québec ont une importance environnementale et économique pour nos forêts. Ils servent à produire des semences de hautes qualités dans une sélection très rigoureuse pour obtenir les meilleurs phénotypes. Cependant, les insectes ravageurs sont tous aussi conscients de ces concentrations en hautes qualités de nourriture. Ces insectes dits anodins dans un monde naturel deviennent des pestes qui coûtent aux corps politiques des centaines de milliers de dollars en investissement pour le reboisement. Parmi ces insectes, nous retrouvons la mouche granivore (*Strobilomyia neanthracina*) et la pyrale des cônes du sapin (*Dioryctria abietivorella*) étant les deux plus importants ravageurs de semences. Afin de préserver les cônes de hautes qualités, des biopesticides sont produits pour contrôler la population de ses insectes. Les champignons *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* sont couramment utilisés comme biopesticides dans le monde agricole. Dans ma présentation, ces deux champignons sont testés pour leur efficacité dans le contrôle des insectes mentionnés ci-dessus. Cet été environ 2000 cônes ont été prélevés dans divers vergers à grains du Québec. Nous avons trouvés des larves de mouche granivore en grande quantité (1 larve par 2 cônes). Nous avons effectués des bioessais sur les larves pour observer et identifier les souches de champignons entomopathogènes les plus efficaces dans le contrôle des pestes. Nous avons identifié 3 souches de champignons et puis une autre séance de bioessai a été effectuée pour confirmer nos observations. Nous avons observé que trois souches de *Metarhizium anisopliae* ont présenté les plus hauts pourcentages de mortalité soit de 14.4%, 20%, 25.8% après 5 jours post-traitement et 73.3%, 53.3% et 73.3% après 11 jours post-traitement. D'autres tests de CL50 sont prévus l'été prochaine (Prochaine récolte de cônes) ainsi que de partir une colonie de pyrale des cônes pour étudier l'effet de synergie du champignon *beauveria bassiana* et la bactérie *bacillus thuringiensis* dans l'utilisation de biopesticide pour le contrôle de l'insecte.

Session II : Microbiologie

A2.21

ISOLEMENT ET CARACTÉRISATION DE BACTÉRIES DÉGRADANT LE CYANATE ET LE THIOCYANATE.

¹Julie Ménard, ^{1,2} Pierre Juteauet ¹Eric Déziel

¹INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Canada

²CEGEP St-Laurent, Montréal, Canada

La cyanuration dans le domaine minier est une pratique commune pour extraire les particules d'or du minerai mais cet extraction génère des quantités importantes cyanure (CN-) dans l'effluent rejeté. Un procédé utilisé pour remédier à ce problème consiste en un traitement chimique générant des composés moins toxiques tels le cyanate (OCN-) et le thiocyanate (SCN-). Cependant, ces rejets de deuxième ligne demeurent critiques pour l'environnement et éventuellement pour la santé humaine, puisqu'ils se trouvent en concentrations extrêmement élevées. Un traitement biologique est donc ensuite effectué avant le rejet final permettant ainsi de dégrader ces molécules en des substances peu toxiques. Donc, avec des conditions optimales, des microorganismes dégradent et consomment ces composés selon les deux voies cataboliques, soit la voie du cyanate et la voie du sulfide de carbonyle. La littérature présente quelques microorganismes impliqués dans ces voies mais peu d'informations y sont rattachées concernant certaines étapes de transformation. Cependant, nous savons que certaines bactéries utilisent ces molécules comme source de soufre, d'azote et/ou d'énergie, alors d'autres peuvent les utiliser comme source de carbone ou une combinaison de ces derniers. Les objectifs de ce projet de recherche sont d'enrichir des microflore capables d'utiliser le cyanate et le thiocyanate comme sources d'azote et/ou de carbone présentes dans le biotraitement de l'effluent minier d'une mine aurifère. Par la suite, un isolement des bactéries, un profil de la microflore par PCR-DGGE et une librairie de clones provenant des biomasses enrichies pourront être faits afin d'identifier la population microbienne totale et spécifique dans la dégradation de ces composés. Les résultats obtenus démontrent que la croissance microbienne et la dégradation du cyanate est possible lorsque celui-ci est utilisé comme source de carbone, d'azote et les deux. À l'opposé, la croissance bactérienne et la dégradation du thiocyanate, est observée seulement lorsqu'il est utilisé comme source de carbone et d'azote combiné. Finalement, la caractérisation préliminaire de la microflore révèle une diversité des microorganismes dans les consortia mais avec dominance de certains genres bactériens.

A2.22

ÉLABORATION D'UNE STRATÉGIE DE LUTTE PHYTOSANITAIRE CONTRE LE SCARABÉE JAPONAIS (*POPILLIA JAPONICA*) EN PÉPINIÈRES.

François Giroux-Quesnel, Claude guertin

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

La forêt fait partie intégrante de l'histoire, de la culture ainsi que de l'économie québécoise. Afin d'effectuer le reboisement, il est nécessaire de faire appel aux différentes pépinières publiques et privées existantes. Cependant, de nombreux insectes ravageurs vont limiter la production de nombreux plants en causant des dommages importants aux cultures. Depuis son introduction en 1998 au Québec, le scarabée japonais (*Popillia japonica*) est la cause d'importants dommages chez une grande variété de plantes indigènes. En effet, les adultes vont s'alimenter des feuilles, fruits et des fleurs de plus de 300 espèces végétales tandis que les larves vont se nourrir des racines de plusieurs espèces de graminées. Afin de lutter contre ce ravageur, de nombreux insecticides chimiques sont utilisés afin de limiter les dommages causés par cet insecte. Afin de limiter les risques environnementaux ainsi que ceux liés à la santé humaine, l'élaboration de nouveaux agents de lutte phytosanitaire devient essentiel. Pour ce faire, un projet de recherche a été élaboré comportant deux principaux objectifs de travail. En effet, pour lutter contre ce ravageur, il est essentiel de déterminer un agent biologique efficace contre celui-ci ainsi que la répartition spatiale du scarabée japonais sur le territoire concerné. Premièrement, différents bioessais ont été effectués chez les adultes et les larves à l'aide de champignons entomopathogènes afin trouver un insecticide biologique efficace contre ce ravageur. Deuxièmement, la répartition spatiale des adultes a été déterminée en relation avec différentes caractéristiques environnementales du substrat. En répondant à ces deux objectifs de travail, l'établissement d'une stratégie de lutte phytosanitaire va être possible. Pour ce qui est des résultats, les analyses du taux de survie nous ont permis de constater qu'une différence significative existe entre nos témoins et les différents isolats testés de champignons entomopathogènes pour ce qui est des larves et des adultes. Pour ce qui est de notre deuxième objectif, nous avons pu constater que la présence des adultes était influencée par différentes caractéristiques environnementales. Donc, ces deux objectifs vont nous permettre de mettre en place une stratégie de lutte phytosanitaire contre le scarabée japonais en pépinières.

Session III : Virologie

A3.23

STRUCTURE ET FONCTION DE LA PARTIE UNIQUE DE LA PROTÉINE VP1 DU PARVOVIRUS PORCIN

¹V. Bouchard-Lévesque, ²K. Gehring & ¹P. Tijssen

¹INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Qc

²Université McGill, Montréal, Québec, H3G 0B1, Canada

Le parvovirus porcin (PPV) est un petit virus non enveloppé à ADN simple brin linéaire appartenant à la famille des Parvoviridae. Sa capsid est composée des protéines VP1 et VP2. Ces protéines possèdent une séquence commune, leur gène étant superposés, c'est l'épissage alternatif qui détermine laquelle d'entre elles sera synthétisée. La plupart du temps, le codon d'initiation de VP1, situé dans un petit intron, est enlevé et par le fait même, c'est VP2 qui est produite. Bien que la capsid du PPV puisse entièrement être formée de VP2, une particule virale possédant une telle capsid est incapable de compléter son cycle de réplication. La partie unique de VP1 (VP1up), située en N-terminale de la protéine et encodée par la région du génome n'étant pas partagée avec VP2, est donc cruciale pour l'infektivité. L'importance de VP1up dans l'infektivité pourrait potentiellement être expliquée par le fait qu'elle possède une activité phospholipase A2 sécrétée (sPLA2) au niveau d'un domaine extrêmement conservé parmi presque tous les *Parvoviridae*. En effet, la PLA2 virale (pvPLA2) assure une fonction capitale dans les étapes précoces du cycle viral, ce qui lui confère une importance primordiale dans l'infection. Plus précisément, notre laboratoire a démontré que son rôle se situe ultérieurement à l'attachement à la cellule, à l'entrée dans la cellule et à l'entrée dans la voie endocytique mais préalablement aux processus nucléaires. Étant donné l'importance de la pvPLA2 dans l'infektivité et les nombreuses différences la distinguant des sPLA2, nous procédons à sa caractérisation. Ainsi, nous avons optimisé l'expression et la purification de fragments de VP1. Présentement, des essais de résonance magnétique nucléaire (RMN) sont en route afin de résoudre la structure tridimensionnelle de la région N-terminale de VP1. Aussi, des mutations ont été introduites dans le site présomptif d'attachement aux membranes de la pvPLA2 et de tels mutants seront également générés pour le site actif. Ces mutants seront soumis à des essais enzymatiques, permettant alors l'identification d'acides aminés critiques de la pvPLA2. De plus, nous allons étudier le rôle de la pvPLA2 dans le contexte de l'infection afin de déterminer si cette enzyme est impliquée dans la sortie de la voie endosomale et/ou dans l'entrée au noyau. Finalement, nous utiliserons les informations obtenues lors de la caractérisation dans le but d'obtenir des inhibiteurs de l'enzyme virale par criblage à haut débit (HTS), ouvrant ainsi la voie au développement d'un inhibiteur spécifique en tant que nouvelle classe de drogue antivirale, ce qui constituerait un avancement majeur dans la lutte contre cette infection.

A3.24

LA RÉORGANISATION NUCLÉOLAIRE DES NEURONES SUITE À UNE INFECTION PAR LE VIRUS DE L'HERPÈS SIMPLEX.

A. Bourget, M.H. Lymberopoulos, N. Ben Abdeljelil et A. Pearson.

INRS-Institut Armand Frappier, 531 boul. des Prairies, Laval, Québec, H7V 1B7.

Le virus de l'herpès simplex (VHS-1) cause des lésions cutanées, des kératites et parfois des encéphalites virales. Suite à une infection, le virus entre en latence au niveau du ganglion trijumeau. Lors d'un stress, le virus peut se réactiver et causer une infection récurrente. Dans un modèle oculaire murin, il a été démontré que la protéine virale UL24 est importante pour la réplication et la réactivation du virus en latence. UL24 joue un rôle majeur dans la réorganisation du noyau lors de l'infection de fibroblastes par le VHS-1. Notamment, UL24 se localise au nucléole et induit la redistribution spatiale de plusieurs protéines de ce compartiment. Nous avons démontré que l'infection cause une dispersion de la nucléoline et B23 à travers du noyau dans différentes lignées cellulaires et que cet effet est UL24 dépendant. Notre hypothèse est qu'UL24 affecte l'organisation des nucléoles de cellules neuronales pour aider à la réplication virale lors de l'infection aiguë et la réactivation. Le premier objectif est de déterminer l'effet de l'infection du VHS-1 sur les nucléoles de cellules neuronales. Nous allons différencier des cellules de tétocarcinome humain en neurones par un traitement à l'acide rétinoïque. De plus, des cultures primaires neuronales seront établies à partir d'embryons de souris Balb/c. Pour déterminer la localisation de UL24, nous infecterons des neurones avec vHA-UL24 qui exprime la protéine avec une étiquette d'hémagglutinine et détecterons HA-UL24 par immunofluorescence. Afin de voir l'impact du VHS et d'UL24 sur le nucléole, les neurones seront mock-infectés, ou infectés avec une souche sauvage de VHS-1 (KOS) ou une souche déficiente en UL24 (UL24X). L'organisation des nucléoles sera évaluée par immunomarquage pour des protéines nucléolaires et visualisée en microscopie confocale. Le deuxième objectif est d'évaluer l'importance d'UL24 pour l'efficacité de la réplication virale dans les neurones en comparant KOS et UL24X. Le virus produit sera récolté à différents temps post-infections pour tracer des courbes de croissance. Les résultats de ce projet permettront une meilleure compréhension du rôle d'UL24 dans l'infection neuronale par le VHS-1.

Session III : Virologie

A3.25

CARACTÉRISATION PRÉLIMINAIRE DES DOMAINES DE MULTIMÉRISATION ET D'EXPORTATION DE LA PROTÉINE REV DU VIRUS D'IMMUNODÉFICIENCE BOVINE.

A. Gomez et D. Archambault.
Université du Québec à Montréal.

La protéine Rev a une fonction essentielle dans la réplication des lentivirus. Rev assure l'exportation des ARNs viraux non épissés et partiellement épissés du noyau au cytoplasme. Pour transporter les ARNs, la protéine Rev lie une séquence nommée "Élément de Réponse à Rev" (RRE) situé dans l'extrémité 3' des ARN viraux et fait un cycle de transport entre le noyau et le cytoplasme via le complexe de nucléoporines. Les protéines Rev des lentivirus contiennent un minimum de trois domaines fonctionnels: un domaine basique riche en arginines nécessaire à la liaison de l'ARN (RBD) et à la localisation nucléaire (NLS), un domaine riche en leucines nécessaire à l'exportation du complexe Rev-ARN (NES), et deux régions nécessaires à la multimérisation de Rev. Dans ce travail nous avons identifié le NES et les domaines possibles de multimérisation de la protéine Rev du VIB. Pour ce faire, différents mutants de délétion de Rev (20 aa) ont été générés et clonés dans un vecteur d'expression procaryote (pET21b) et dans deux vecteurs d'expression eucaryote (pcDNA3.0 Myc/His et pEGFP-C1). Pour déterminer si la protéine Rev sauvage est capable de former des multimères, des expériences de crosslinking in vitro (avec la protéine purifiée) et de microscopie confocale avec la protéine Rev sauvage fusionnée à la GFP (Rev-WT-GFP) et à la RFP (Rev-WT-RFP) ont été réalisées. Pour identifier le domaine NES, des plasmides codant pour la protéine Rev sauvage et ses différents mutants ont été co-transfectés avec un plasmide (pDM138-VIB) qui contient entre les sites donneur et accepteur d'épissage du virus de l'immunodéficience humaine (VHI-1) le gène rapporteur "Chloramphénicol Acetyl Transférase" (CAT) et le site RRE du VIB. Les résultats préliminaires ont démontré que la protéine Rev est capable de former de multimères et que possiblement deux régions de la protéine sont impliquées dans cette fonction : une région localisée en l'extrémité N-terminale et une autre localisée dans la partie centrale de la protéine. Le NES aussi fut localisé dans la région centrale de la protéine. Des études de mutagenèse dirigée seront réalisées pour identifier les résidus importants du domaine de multimérisation.

A3.26

IDENTIFICATION D'UNE NOUVELLE LIGNÉE DE CELLULES ÉPITHÉLIALES PULMONAIRES PORCINES PERMISSIVES À LA RÉPLICATION DU VIRUS DU SYNDROME REPRODUCTEUR ET RESPIRATOIRE PORCIN

Marie-Ève Lebel, Jian Jun Jia, Nedzad Music, Jérôme del Castillo, Mario Jacques, Carl A. Gagnon
Groupe de Recherche sur les Maladies Infectieuses du Porc, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe.

Le Syndrome Reproducteur et Respiratoire Porcin (SRRP) est une maladie infectieuse porcine qui cause de grandes pertes économiques à l'industrie porcine québécoise. Le virus du SRRP (VSRRP) se transmet par aérosol et interagit in vivo avec les cellules des voies respiratoires de l'hôte pour causer la maladie. Les seules cellules permettant la réplication du VSRRP in vitro sont les cultures primaires de macrophages alvéolaires porcins et la lignée continue de cellules rénales de singe MARC-145. Actuellement, aucune lignée de cellules pulmonaires porcines n'a été démontrée comme étant permissive à l'infection au VSRRP. Le but de cette étude était de déterminer si les cellules épithéliales pulmonaires porcines SJPL peuvent être infectées et supporter la réplication du VSRRP in vitro. Pour ce faire, les cellules SJPL et MARC-145, ont été infectées avec différentes souches du VSRRP. Ensuite, la présence d'antigènes du VSRRP dans les cellules infectées a été évaluée par immunofluorescence. De plus, l'efficacité de production de particules virales infectieuses et d'isolement virale a été comparée dans les deux lignées cellulaires. Enfin, le niveau d'activation de la procaspase 3/7 dans les cellules infectées a été mesuré. Dans cette étude, il a été démontré que les cellules SJPL étaient permissives à la réplication du VSRRP et que la production de particules virales infectieuses était similaire à celle des cellules MARC-145 ($P > 0.05$). En outre, il a été observé que les cellules SJPL étaient capables de permettre la réplication de plusieurs souches du VSRRP, mais étaient légèrement moins efficaces pour l'isolement viral que les MARC-145. Enfin, le niveau d'activation de la procaspase 3/7 lors de l'infection virale était significativement plus élevé chez les cellules SJPL en comparaison avec les cellules MARC-145 ($P < 0.05$). En conclusion, les cellules SJPL, qui sont d'origine porcine, pourraient être un substitut intéressant aux cellules MARC-145 pour la production de vaccins contre VSRRP, en plus d'être un modèle in vitro approprié pour étudier la pathogenèse du VSRRP.

Session III : Virologie

A3.27

IMPORTANCE DU SITE CONSENSUS DE SUMOYLATION DES PROTÉINES TRIM5^{arh} ET TRIMCyp DANS LA RESTRICTION DU VIH-1.

Marie-Edith Nepveu-Traversy, Lionel Berthoux
Université du Québec à Trois-Rivières

Les protéines à motif tripartite (TRIM) sont impliquées dans de nombreux processus biologiques. Les protéines de la famille TRIM5 inhibent spécifiquement certains rétrovirus peu après leur entrée dans la cellule et ce, par différents mécanismes : accélération de la décapsidation, diminution de l'efficacité du transport nucléaire et dégradation protéasomique. TRIMCyp présent chez le singe-hibou et TRIM5^a du singe rhésus macaque (TRIM5^{arh}) sont membres de cette famille et inhibent le VIH-1, agent causal du SIDA. Leurs mécanismes de restriction impliquent d'autres protéines comme l'ubiquitine, protéine nécessaire au processus de dégradation par le protéasome. La sumoylation ressemble à l'ubiquitination, mais implique une protéine SUMO (Small Ubiquitine-related Modifier) qui se lie de façon covalente à la lysine (K) située dans une séquence consensus : Ψ-K-X-E/D. La sumoylation est impliquée dans la régulation des propriétés fonctionnelles des protéines incluant les interactions protéine-protéine et la signalisation cellulaire. La protéine TRIM19, mieux connue sous le nom de protéine de la leucémie promyélocytaire (PML), est, notamment, sumoylée. Les protéines de la famille TRIM5 possèdent un site consensus pour la sumoylation (lysine position 10) et il est très conservé entre les différentes protéines de cette même famille. Néanmoins, aucune donnée n'a été rapportée sur la sumoylation de TRIM5^{arh} et TRIMCyp. Notre objectif est donc de mettre en évidence cette sumoylation et d'élucider son implication dans le processus de restriction du VIH-1 par les protéines TRIM5^{arh} et TRIMCyp. Nos résultats préliminaires montrent qu'une mutation de la lysine en position 10 de ces 2 protéines diminue la restriction de l'infection par le VIH-1. De plus, l'arsenic trioxyde, drogue reconnue pour provoquer la modification par SUMO de TRIM19, n'a pas d'effet sur les protéines mutées, contrairement aux protéines sauvages qui perdent partiellement leur effet restrictif en présence d'arsenic. Des expériences de temps demi-vie montrent que les protéines mutées sont moins stables que les protéines sauvages. Nos résultats suggèrent que la sumoylation de la lysine en position 10 module la stabilité et la fonction de restriction des protéines TRIM5^{arh} et TRIMCyp.

A3.28

MODIFICATION DE LA SPÉCIFICITÉ D'ACTION DU FACTEUR ANTIVIRAL TRIM5^ahu CONTRE LE VIH-1 PAR L'ÉVOLUTION MOLÉCULAIRE DIRIGÉE.

Quang Toan Pham, Amélie Bouchard & Lionel Berthoux
Laboratoire de Rétrovirologie, Université du Québec à Trois-Rivières

L'immunité innée contre les rétrovirus chez les primates dépend en partie de l'action de protéines intracellulaires. TRIM5^a est une protéine cytoplasmique exprimée dans la plupart des types cellulaires et qui est capable d'intercepter de façon sélective les rétrovirus peu après leur entrée dans la cellule. TRIM5^a inhibe les rétrovirus en les séquestrant dans des corps cytoplasmiques, en accélérant leur décapsidation, et en empêchant leur transport vers le noyau. Plusieurs versions simiennes de TRIM5^a (ex. singe rhésus) inhibent le VIH-1. Bien que la forme humaine de TRIM5^a soit active contre certains rétrovirus non humains telle la souche dite "N-tropique" du virus de la leucémie murine (N-MLV), elle est incapable d'inhiber le VIH-1. Le domaine B30.2/SPRY situé en position C-terminale de TRIM5^a est responsable de cette spécificité de restriction et il a été démontré qu'une mutation au niveau de cette région pouvait conférer à TRIM5^a-hu une activité de restriction contre le VIH-1. Notre objectif de départ était d'insérer des mutations aléatoires par mutagenèse dirigée dans la protéine TRIM5^a-hu au niveau du domaine B30.2/SPRY et d'isoler par criblage fonctionnel les différents mutants qui présentent une activité de restriction élevée contre le VIH-1. Ce criblage nous a permis d'identifier une mutation qui permet d'augmenter d'environ 8 à 10 fois la restriction du VIH-1 par TRIM5^a-hu. Suite à ces résultats, une série de simples mutants ont été construits dans la position d'intérêt. Des doubles mutants ont également été construits en combinant la nouvelle mutation avec celle déjà répertoriée dans la littérature. Nos résultats démontrent que plusieurs mutations (ou combinaisons de mutations) dans le domaine B30.2/SPRY permettent d'augmenter significativement la restriction de divers rétrovirus par TRIM5^a-hu. De plus, l'expression de doubles mutants dans des lymphocytes T (CD4+) confère un niveau de protection contre le VIH-1 équivalent au TRIM5^a du singe Rhésus. À long terme, ces résultats pourraient aboutir à des stratégies de thérapies géniques contre le SIDA utilisant TRIM5^a.

Session III : Virologie

A3.29

PstDNV: TRANSCRIPT MAPPING DU GÉNOME, L'ACTIVITÉ DES PROMOTEURS ET LA TRANSACTIVATION DE SES PROMOTEURS PAR LA PROTÉINE NONCAPSID.

¹H.T.Pham, ²F.X. Jousset, ³H. Shike, ¹J.Szelei. ²M.Bergoin and ¹P.Tijssen

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

²Laboratoire de Pathologie Comparée, Université Montpellier II, 34095 France

³Department of Pediatrics, University of California at San Diego School of Medicine, La Jolla 92093-0830

La nécrose hypodermique et hématopoïétique infectieuse (NHHI), est un parvovirus non enveloppé d'environ 20 nm de diamètre avec l'ADN génomique simple brin. Son nom officiel, selon ICTV, est PstDNV. PstDNV est un pathogène redoutable, qui entraîne une importante mortalité chez la crevette bleue *Penaeus stylirostris* (jusqu'à 90%) (Lightner et Redman, 1998) et de graves déformations chez la crevette à pattes blanches *Penaeus vannamei*. La séquence presque entière du génome de PstDNV a dévoilé une organisation des gènes viraux très semblable à celle trouvée chez les brevidensovirus. Les gènes non-structuraux des protéines NS1 et NS2 sont dans le même cadre de lecture sur le brin complémentaire. Un petit gène structural (VP) est situé près de l'extrémité 3' sur le même brin. Pour étudier l'expression des gènes de PstDNV, nous avons analysé la transcription virale après la transfection de la lignée cellulaire LD652 avec le plasmide contenant 3783 nt de la séquence du PstDNV. Nous avons produit et cartographié avec précision les transcrits de PstDNV: trois différents transcrits ont été identifiés à partir du nt 100, nt 465 et nt 2448. Contrairement aux précédentes études, nous avons identifié 3 promoteurs des gènes des protéines NS1, NS2 et VP aux positions mu 2 (promoteur P2), mu 12 (promoteur P12) et mu 61 (promoteur P61), respectivement. L'activité des promoteurs P2, P12 et P61 a été mesurée dans les cellules de vertébrés et d'invertébrés à l'aide du gène rapporteur de la luciférase. Selon les résultats, le P61 se révèle à être un promoteur faible sans une transactivation par la protéine NS1. Lorsque cette protéine est fournie par la co-transfection, une augmentation significativement de l'expression de son propre promoteur et du promoteur P61 a été notée.

A3.30

LE RÔLE DE LA GLYCOSYLATION DES PROTÉINES DE L'ENVELOPPE MORBILLIVIRALES DANS LE TROPISME VIRAL.

X. Wong, B. Sawatsky, V. von Messling

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Le virus de la maladie du Carré (CDV) et le virus de la rougeole appartiennent au genre Morbillivirus dans la famille des *Paramyxoviridae*. Les Morbillivirus sont très contagieux et ils sont responsables de nombreuses maladies chez les humains et animaux. CDV exprime deux protéines membranaires essentielle à l'entrée virale: la protéine d'attachement (H) et la protéine de fusion (F). L'infection d'un hôte par le CDV commence par l'envahissement des cellules immunitaires en interagissant avec le récepteur SLAM et la protéine virale H. Ensuite, le virus se propage dans les cellules épithéliales à l'aide d'un mécanisme encore méconnu. Nous avons récemment démontré que le profil des glycanes sur la protéine H aurait une influence sur l'efficacité du virus à infecter les cellules épithéliales. Cela suggère que l'entrée virale impliquerait une interaction entre la protéine virale H et d'autres protéines à la surface de la cellule cible capable de se lier aux glycanes. Afin d'identifier les partenaires cellulaires de la protéine H, nous avons construit des plasmides codant pour la forme soluble de cette protéine qui est l'étiquette Flag. Par la suite, ces plasmides ont été transfectés dans des cellules VeroSLAM. L'expression des protéines recombinantes dans la cellule et le surnageant ont été analysés par immunobuvardage de type Western. Nous sommes maintenant en train de produire des lignées cellulaires stables à partir de ces clones pour avoir une production constante de protéine H soluble. À l'aide de cette protéine soluble, nous allons déterminer l'efficacité de liaison dans un panneau de protéines cellulaire qui lient des glycanes. Les lectines, galectines et intégrines exprimés naturellement sur la surface des cellules épithéliales seront évalués pour leur capacité de se lier aux protéines H par ELISA. L'identification de ce récepteur épithélial permettra à mieux comprendre le mécanisme d'entrée et le tropisme des Morbillivirus.

Session III : Virologie

A3.31

CARACTÉRISATION DU RÔLE DE LA PROTÉINE V DU CDV DANS L'IMMUNOSUPPRESSION MORBILLIVIRALE.

¹C. Goncalves, ¹N. Svitek, ¹V. von Messling
¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

La protéine accessoire V des virus du genre morbillivirus est un facteur de virulence important dans l'immunosuppression observée durant l'infection *morbillivirale*. Le virus de la rougeole (MeV) code une protéine V capable d'interférer avec les protéines STATs ainsi que l'ARN hélicase MDA5 mais l'importance de ces interactions dans la pathogénèse reste encore inconnue. L'infection du virus de la maladie de Carré (CDV) chez son hôte naturel conduit à l'apparition de signes cliniques identiques à ceux de MeV. Nous étudions ainsi l'importance de l'interférence de la protéine V de CDV dans l'établissement de la réponse immunitaire innée pour le développement d'une infection létale chez le furet. Dans un premier temps, nous avons recherché les acides aminés de la protéine V nécessaires pour inhiber une réponse immunitaire innée. Des mutations de V produites par la méthode « alanine scanning » ont été utilisées dans lors de tests luciférases pour caractériser leurs effets sur l'induction de la voie des interférons de type I et II, la voie NF- κ B et la voie Mx. Nous avons alors délimité une région de 10 acides aminés au sein de la protéine V capitale dans l'inhibition de la voie des interférons de types I et la voie Mx. Dans un second temps, nous avons regardé si l'infection par le CDV modulait l'expression des complexes majeurs d'histocompatibilité de classe I (CMHI) et II (CMHII) à la surface de PBMCs de furets. Des furets ont été infectés avec la souche létale 5804PeM codant pour la protéine eGFP située dans un cadre de lecture supplémentaire entre les gènes P et M pour faciliter l'analyse des cellules infectées. Les PBMCs ont été isolés deux fois par semaines pendant les 14 premiers jours de l'infection puis marqués à l'aide d'anticorps dirigés contre les MHCI ou MHCII pour être analysés par cytométrie de flux. Nous avons remarqué au cours de l'infection que la présence de MHCII sur les cellules infectées à jour 7 post infection disparaît à jours 12 post tandis que l'expression de MHCI reste inchangée. En conclusion, nous avons déterminé d'une part l'importance d'une région de la protéine V de CDV sur la voie des interférons de type I et la voie Mx et d'autre part une modulation de l'expression des CMHII lors de l'infection du CDV chez le furet.

A3.32

INTERACTION ENTRE LE VIRUS DE L'IMMUNODÉFICIENCE HUMAINE ET LA GALACTINE-1 : COMMENT LA GALACTINE-1 (MAIS PAS LA GALACTINE-3) FAVORISE SÉLECTIVEMENT L'INFECTION DES CELLULES CD4+?

¹C St-Pierre, ²M Ouellet, ²MJ Tremblay, ¹S Sato.

¹Laboratoire de Glycobiologie, Centre de recherche en infectiologie, Université Laval, Québec, Canada ;
²Laboratoire d'Immuno-Rétrovirologie Humaine, Centre de recherche en infectiologie, Université Laval, Québec, Canada.

Le VIH est un virus enveloppé dont la membrane possède plusieurs glycolipides, protéoglycans et glycoprotéines formant le glycocalyx. La gp120, codée par le gène viral env, est l'une des glycoprotéines du glycocalyx. Près de la moitié de la masse de la gp120 est dépendante des sucres à sa surface. Lors du cycle viral, l'attachement de la particule à la cellule cible via l'interaction entre la gp120 et le CD4 est une étape cruciale à l'efficacité de l'infection. Cependant, cette interaction entre gp120 et CD4 est de faible intensité et il a été suggéré que le VIH utiliserait des molécules de l'hôte pour augmenter son infectiosité. Notre équipe a déjà démontré que la galectine-1 est en mesure de favoriser l'attachement du VIH à la cellule cible. Toutefois, la galectine-3, qui fait partie de la même famille de lectine ayant une affinité pour les β -galactosides, n'est pas en mesure de promouvoir l'infection. Nous avons émis l'hypothèse que la galectine-1 pouvait interagir directement avec la particule virale et la cellule cible contrairement à la galectine-3. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons étudié les ligands potentiels de la galectine-1 à la surface des virions et des cellules cibles. En utilisant une technique de chromatographie d'affinité de lectine, nous avons confirmé que la galectine-1 liait directement les virions alors que la galectine-3 n'avait qu'une faible affinité pour le virus. De plus l'interaction entre la galectine-1 et le VIH est dépendant de la gp120 puisque l'interaction entre la galectine-1 et la particule virale est réduite de 90% lorsque le virion n'exprime pas la gp120. Enfin, la spécificité de la galectine-1 à lier le VIH ne provient pas de la nature des ligands à la surface virale, mais de leur arrangement. La libération enzymatique des sucres à la surface virale ne démontre pas une affinité supérieure pour la galectine-1 ou la galectine-3. Cette compréhension précise du mécanisme d'action du virus est primordiale dans l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Session III : Virologie

A3.33

RÔLE DES PROTÉINES ACCESSOIRES DU CORONAVIRUS HUMAIN OC43

Jessica DESJARDINS, Marc DESFORGES et Pierre J. TALBOT

Laboratoire de neuroimmunovirologie

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

Le coronavirus respiratoire humain OC43 (HCoV-OC43) peut infecter le système nerveux central (SNC) humain et induire une maladie neurologique dans un modèle animal. Son génome contient, outre les gènes nécessaires à sa réplication, des gènes codant pour des protéines dites accessoires dont le rôle dans la réplication virale demeure inconnu : une protéine structurale, l'hémagglutinine-estérase (HE) et deux protéines non-structurales, ns2 et ns12.9. L'objectif de ce projet est de déterminer le rôle de ces trois protéines lors de l'infection des cellules du SNC, notamment des cellules LA N-5 différenciées en neurones humains et un modèle murin de maladie neurologique viro-induite, par génétique inverse avec un clone infectieux d'ADNc du HCoV-OC43. La délétion du gène HE ou son inactivation par insertion d'un codon stop a rendu impossible la production du virus recombinant infectieux, sauf après réversion spontanée de la mutation au niveau du codon stop. La protéine HE semble donc essentielle à la réplication virale. Des études de complémentation avec des lignées cellulaires surexprimant HE sont en cours pour confirmer cette hypothèse. D'autres virus recombinants ont aussi été produits possédant des mutations ponctuelles dans la protéine HE : S40T au site actif enzymatique ou S116F et A402V, apparues lors d'une infection persistante de cellules neurales. L'infection des cellules LA-N-5 par ces virus permettra de vérifier le rôle de ces mutations dans le cycle réplcatif viral. D'autre part, les gènes codant les protéines accessoires ns2 et ns12.9 ont été inactivés et des virus recombinants produits. Ces virus possédant un codon stop ont montrés une cinétique de réplication semblable à celle du virus sauvage. Ces protéines non-structurales ne semblent donc pas avoir de rôle important à jouer dans la réplication virale in vitro. Des essais d'infection en souris sont en cours pour déterminer l'effet de l'absence de ces protéines sur la capacité d'infection in vivo et sur la neurovirulence. En conclusion, la protéine accessoire HE semble essentielle pour permettre au virus d'infecter les cellules cibles alors que ns2 et ns12.9 n'auraient aucun rôle à ce niveau mais pourraient jouer un rôle in vivo (Subventionné par l'IMII des IRSC et une bourse du CRSNG).

A3.34

MÉCANISMES MULTIPLES IMPLIQUÉS DANS L'ENTRÉE ET LE TRANSPORT INTRACELLULAIRE DU PARVOVIRUS PORCIN.

Maude Boisvert, S. Fernandes et P. Tijssen

INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Qc

Le parvovirus porcine (PPV) est un membre de la famille des parvovirus, possédant un génome d'ADN simple brin dont la réplication a lieu dans le noyau de la cellule hôte. Ce génome est recouvert d'une capsidie icosaédrique, non enveloppée. Les interactions entre le PPV et les cellules hôtes sont peu connues. Les travaux effectués dans le laboratoire concernant les étapes précoces de l'infection par le PPV ont démontré l'implication de mécanismes encore non cités dans la littérature pour les parvovirus. En effet, le PPV utilise plus d'un mécanisme pour son entrée dans la cellule hôte. Tout comme plusieurs parvovirus, il utilise l'endocytose via les puits de clathrine. Cependant, une grande partie de son entrée est effectuée par macropinocytose, un processus peu sélectif, et encore non identifié pour un parvovirus. De plus, le mode d'entrée préférentiel dépend du type de particule soit les particules isolées ou les agrégats. Ceci est intéressant du point de vu de l'infection naturelle chez l'hôte en comparaison avec l'infection de cellules en laboratoire. Néanmoins, peu importe le mode d'entrée choisi, le virus doit d'abord se lier à des résidus d'acide sialique sur les protéines de la surface cellulaire. Après le clivage de ceux-ci par la neuraminidase, la liaison du virus est presque abolie, et peut être rétablie partiellement en utilisant une N ou une O-sialyltransférase. Une fois dans la cellule, nous avons démontré que l'acidification de la voie endosomale et le transfert aux endosomes tardifs sont essentiels pour l'infection par le PPV. Ce passage dans la voie endosomale peut jouer un rôle dans les changements conformationnels de la capsidie permettant la suite de l'infection. Le transport du virus est assuré autant par les microtubules que le réseau d'actine, et ce de façon séquentielle. Nous avons aussi démontré une interaction entre le virus et le système ubiquitine/protéasome. Les capsidies virales sont ubiquitinylées dans les premières heures d'infection. L'activité du protéasome est essentielle au bon déroulement de l'infection, ces modifications de la capsidie pourraient faciliter la livraison finale du génome au noyau. Finalement, ces résultats ont permis de mettre en évidence des mécanismes importants concernant l'accès dans la cellule et le transport au noyau du PPV.

Session III : Virologie

A3.35

IMPORTANCE DE RÉSIDUS HAUTEMENT CONSERVÉS DANS LA PROTÉINE VIRALE UL24 DU VHS-1 LORS DE LA PATHOGENÈSE.

P.-A. Rochette, G.A. Leiva Torres, A. Pearson.
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

La majorité de la population est infectée par le virus de l'herpès simplex de type 1 (VHS-1). Ce virus cause typiquement des feux sauvages, mais aussi des infections sévères chez les nouveaux-nés ou chez les personnes immunodéprimées. La protéine virale UL24 du VHS-1 est conservée parmi les Herpesviridae. Dans un modèle murin d'infection oculaire, UL24 est important pour la réplication virale neuronale, ainsi que pour la réactivation virale à partir de la latence. Certains acides aminés hautement conservés d'UL24 ont été impliqués dans un motif d'endonucléase de type PD(D/E)xK identifié par analyses en bioinformatique. Notre hypothèse est que les résidus hautement conservés d'UL24 sont critiques pour la pathogenèse du VHS-1. Nous avons généré des virus possédant des mutations ponctuelles en UL24. La double mutation E99A/K101A cible le site catalytique du potentiel motif d'endonucléase, tandis que la mutation G121A cible un résidu hautement conservé à l'extérieur de ce motif. Ces deux virus ont produit des plages syncytiales en culture cellulaire, mais seule E99A/K101A a affecté la pathogenèse du virus. Nous avons donc génétiquement dissocié le phénotype syncytial associé à UL24 du rôle de cette protéine dans la pathogenèse. Pour faciliter la caractérisation de l'étendue de l'infection in vivo, nous avons introduit une cassette d'expression de tdTomato entre les gènes US7 et US8. Deux isolats indépendants de vUS7-8tdTomato ont été produits. L'insertion de la cassette tdTomato n'a pas affecté l'expression de la protéine US8. De plus, ce virus s'est répliqué de façon similaire au virus de type sauvage KOS en culture cellulaire. En expériences préliminaires in vivo, vUS7-8tdTomato s'est comporté de façon similaire à KOS. Des tissus prélevés de souris infectées par vUS7-8tdTomato ont été analysés par microscopie confocale. L'utilisation de ce virus nous a permis de visualiser les sites de réplication viraux dans l'œil et dans les ganglions trigéminaux. L'insertion dans vUS7-8tdTomato de mutations ciblant UL24 nous permettra de déterminer l'importance d'UL24 dans l'étendue de l'infection in vivo.

A3.36

DES RÉSIDUS CONSERVÉS DE LA PROTÉINE UL24 DU VIRUS DE L'HERPÈS SIMPLEX 1 SONT IMPORTANTS POUR LA DISPERSION D'UNE PROTÉINE NUCLÉOLAIRE, LA NUCLÉOLINE.

Luc Bertrand, Gabriel André Leiva-Torres, Huda Hyjazie et Angela Pearson.
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Le virus de l'herpès simplex 1 (VHS-1) cause des infections qui durent pour toute la vie de l'hôte. La latence s'établit dans les ganglions trijumeaux et suite à un stress, il peut y avoir réactivation de la réplication virale causant une plaie au site original d'infection. Le gène viral UL24 est hautement conservé, et sa délétion résulte en une diminution de la production virale en culture cellulaire, un phénotype de formation de syncytiums et une diminution de pathogénécité dans un modèle d'infection oculaire murin. Il a été rapporté que la protéine UL24 possède un domaine endonucléase, mais la fonctionnalité de celui-ci n'a pas encore été démontrée. Notre laboratoire a déterminé qu'UL24 est essentielle pour la dispersion d'une protéine cellulaire, la nucléoline, du nucléole à travers le noyau. Notre hypothèse est que les résidus faisant partie du domaine endonucléase sont importants pour la capacité d'UL24 d'induire la dispersion de la nucléoline. Plusieurs variants d'UL24 avec des substitutions d'acides aminés hautement conservés ont été générées, et l'effet de ces mutations sur la dispersion de la nucléoline a été analysé. Nous avons identifié plusieurs substitutions qui ont pour effet de réduire, à différents degrés, la dispersion de la nucléoline. De plus, celles affectant le domaine endonucléase ont eu le plus grand impact. Deux des mutations ont été insérées dans le génome du VHS-1, E99A/K101A et G121A. La mutation E99A/K101A, faisant parti du domaine endonucléase, a drastiquement affecté la dispersion de la nucléoline, de plus ce virus a démontré une réduction de la production virale. Par contre, le virus portant la mutation G121A, hors du domaine endonucléase, a conservé son rôle de dispersion, quoique partiellement réduite, et a démontré une croissance semblable au virus sauvage. Les deux virus ont formé des plages de lyses syncytiales, démontrant que la formation de plages syncytiales ne semble pas liée à une perte d'efficacité de réplication. Nos résultats ont permis d'identifier des résidus d'UL24 qui sont importants pour la dispersion de la nucléoline et qui jouent un rôle dans la réplication du VHS-1.

Session III : Virologie

A3.37

CARACTÉRISATION D'ISOLATS ANIMAUX H3N2 CHEZ LE FURET.

¹Eveline Somo, ²Carl Gagnon et ¹Véronika von Messling

¹INRS-Institut Armand-Frappier, université du Québec

²Faculté de médecine vétérinaire, université de Montréal

La grippe est une infection respiratoire sérieuse, associée à une forte morbidité et un potentiel de mortalité élevé chez des patients avec des conditions préexistantes. Une grande partie des épidémies annuelles et les précédentes pandémies sont causées par le virus d'influenza A. Ce virus se caractérise par un large spectre d'hôte constitué d'oiseaux aquatiques et des mammifères divers incluant, le porc, le vison, le furet et les humains. Les pandémies surviennent suite à l'introduction dans la population humaine d'un nouveau sous type, transmissible d'un individu à un autre contre lequel il n'existe pas d'immunité. Une préparation convenable à la prochaine pandémie nécessite une meilleure compréhension du processus de transmission interspèce et d'adaptation à l'hôte. Dans ce but notre étude vise à évaluer la virulence et la stabilité génétique de deux isolats animaux chez le furet. Le furet est susceptible à toutes les souches humaines du virus influenza et développe une maladie similaire à l'humain. Pour ces raisons, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle le potentiel d'un isolat animal à induire une maladie sévère chez l'humain peut être prédit sur la base de sa pathogenèse et de sa stabilité génétique chez le furet. Nous avons utilisé 3 souches H3N2 : 2 isolats animaux provenant du porc et du vison, et un isolat humain. Un groupe de 8 furets à été infecté avec chacun des virus. Quotidiennement, les données nous permettant le suivi clinique tel que la température corporelle, le poids, les signes respiratoires, la morbidité sont enregistrés. Deux et quatre jours après l'infection 2 animaux sont sacrifiés, et les organes du tractus respiratoire sont prélevés. Afin de déterminer la stabilité génétique, une comparaison de séquence des segments codant pour l'hémagglutinine (HA), la neuraminidase (NA) et la protéine de matrice (M) du virus infectant versus celui isolé des organes prélevés 4 jours après l'infection a été réalisée. Nous avons observés que tous les virus induisent une maladie et se répliquent dans le tractus respiratoire. Les souches humaines et de vison ont une pathogenèse similaire, alors que la souche porcine est associée à une maladie plus rapide et des signes cliniques plus sévères. Au cours de l'infection, les segments M et NA des 3 virus reste stables. Par contre leurs segments HA accumulent à des degrés divers des mutations codantes. Cette étude nous permet de confirmer le caractère zoonotique des 2 isolats animaux. En plus, nos données supportent l'idée selon laquelle les souches d'origines porcines sans adaptation préalable peuvent induire une maladie sévère et transmissible chez l'humain.

A3.38

RÔLE DES LEUCOTRIÈNES (LTs) DANS L'INFECTION AU VIH DANS LE SNC.

Jonathan Bertin, Corinne Barat et Michiel J. Tremblay.

Centre de recherche en Infectiologie du CHUL, Université Laval

L'objectif de cette étude est de faire la lumière sur le rôle des leucotriènes (LTs) dans l'infection au VIH dans le SNC en utilisant comme modèles expérimentaux des MDMi (monocyte-derived microglia) et MDM (monocyte-derived macrophages) humaines. Plus précisément, nous vérifions s'il y a un effet des LTs sur les étapes spécifiques du cycle réplicatif du VIH dans le SNC. Nos résultats démontrent clairement que les modèles cellulaires de microglies et macrophages sont permissifs à l'infection par le VIH. Nos données indiquent que la réplication virale dans les MDMi est diminuée suite à une pré-exposition aux LTs. Considérant la capacité des LTs à réduire l'infection virale dans les MDMi, nous avons réalisé une expérience visant à déterminer plus précisément quelles étapes du cycle viral sont affectées par les LTs. Pour ce faire, nous avons utilisé différentes particules virales qui pénètrent à l'intérieur de la cellule hôte soit par un mécanisme de fusion pH-indépendant ou par endocytose (fusion pH-dépendant). Les résultats de cette expérience ont révélé que le processus d'entrée indépendant du pH est affecté par les LTs et non l'endocytose. De plus, nous avons démontré que l'effet de modulation négative des LTs sur le cycle réplicatif du VIH dans les MDMi dépend de l'état d'activation des PKC qui sont indépendantes du calcium intracellulaire. Ainsi, nous pouvons maintenant postuler que l'entrée par fusion membranaire pH-indépendante et possiblement certaines étapes précoces du cycle viral subséquentes à l'entrée du virus sont modulées négativement chez les MDMi exposées aux LTs et ce selon l'état d'activation de certaines PKCs qui ne dépendent pas du calcium intracellulaire. Des expériences de cytométrie en flux démontrent que les LTs causent une diminution importante du corécepteur de chimiokine CCR5. Ce dernier résultat pourrait expliquer pourquoi l'entrée par fusion du virus est atténuée par les LTs. Finalement, des données démontrent que les LTs peuvent aussi diminuer l'infection des macrophages par le VIH. Ainsi, l'ensemble des résultats obtenus par cette étude permettra de mieux comprendre le rôle des eicosanoïdes pro-inflammatoires, tels que les LTs, dans la régulation du cycle réplicatif du VIH dans le SNC. Ces études vont nous permettre d'acquérir des informations pertinentes sur le SIDA neurologique et, à terme, contribuer à la lutte contre cette maladie dévastatrice.

Session III : Virologie

A3.39

UN VIRUS DE LA ROUGEOLE COMPOSÉ DE L'ENVELOPPE DU VIRUS DE LA MALADIE DE CARRÉ PROTÈGE LES FURETS CONTRE UN DÉFI AVEC UNE SOUCHE LÉTALE LA MALADIE DE CARRÉ.

Ronan Rouxel, Nicholas Svitek et Veronika von Messling
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

Le virus de la maladie de Carré (CDV) et le virus de la rougeole appartiennent au genre Morbillivirus dans la famille des Paramyxoviridae. Ces deux virus sont responsables de maladies sévères chez leurs hôtes respectifs caractérisées par l'apparition de rougeurs, de fortes fièvres, des troubles respiratoires et gastro-intestinaux avec, dans certain cas, des complications neurologiques. Le CDV infecte un grand nombre d'espèces de carnivores et aux cours des dernières décennies, ce virus a été responsable de nombreuses épidémies au sein d'espèces en voies de disparition. Bien que les programmes de vaccination des ces animaux aient accrus grâce aux plateformes de surveillances et aux progrès techniques, les vaccins actuels constitués d'une souche vivante atténuée ne sont pas suffisamment sécuritaires chez ces espèces hautement sensibles. Afin de remédier à ce problème, nous avons produits un virus chimérique qui combine le complexe de réplication de la souche vaccinale Moraten du virus de la rougeole avec l'enveloppe d'une récente souche circulante du CDV. Le virus chimérique croît efficacement dans des cellules VerodogSLAMtag et est capable d'infecter des PBMC de furet à un niveau similaire au CDV. Pour valider son efficacité et son innocuité, nous avons immunisé des furets soit par voie intranasale soit intramusculaire. Cette espèce est aussi sensible au CDV que des animaux sauvages visés et succombe à la souche sauvage en 2 à 3 semaines. Aucun des animaux immunisés n'a développé de signe de maladie, bien que des virus ont été détectés dans leurs PBMC 7 jours après l'infection. Les animaux vaccinés par voie intranasale ont démontré un niveau d'anticorps neutralisants plus élevé. Lors du défi avec une souche létale, tous les animaux ont présentés de faibles rougeurs et une virémie transitoire mais aucune leucopénie ou immunosuppression n'a été observée. Notre étude apporte des évidences solides sur la capacité du virus chimérique à induire une réponse immunitaire protectrice. Il constitue ainsi un outil potentiel dans les efforts de conservation des animaux sauvages.

A3.40

PLASTICITÉ DE LA RÉGION HYPERVARIABLE ENTRE LES GÈNES DE LA MATRICE ET DE LA FUSION DU VIRUS DE LA MALADIE DE CARRÉ

A Castan, D Anderson, V von Messling.
INRS- Institut Armand Frappier, Laval, QC.

Le virus de la maladie de Carré (CDV) et son proche parent, le virus de la rougeole, s'inscrivent dans le genre Morbillivirus qui fait partie de la famille des Paramyxoviridae. Les morbillivirus sont responsables de nombreuses maladies graves affectant les humains et les animaux. Le génome du CDV est un ARN simple brin de polarité négative constitué de six gènes séparés par des régions non-traduites (UTRs). L'UTR entre les gènes matrice (M) et fusion (F) est exceptionnellement longue ainsi que très variable entre les différentes souches de CDV. Dû à cette variabilité nous avons émis l'hypothèse selon laquelle l'UTR M-F n'est pas un déterminant de la pathogenèse du CDV. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons échangé cette région entre deux souches virulentes dont le profil de pathogenèse est différent. De plus, nous avons remplacé l'UTR M-F d'une souche virulente du CDV par celle d'une souche vaccinale. Des expériences menées chez le furet ont démontré que le profil de pathogenèse n'est pas modifié par ces échanges. Il existe donc une plasticité permettant l'échange de l'UTR M-F entre les souches de CDV. Pour approfondir nos connaissances nous avons remplacé l'UTR M-F d'une souche virulente du CDV par celle du virus de la rougeole. Dans ce cas, le profil de pathogenèse n'a pas été conservé. Nous avons ainsi observé que la plasticité de l'UTR M-F s'applique au niveau de l'espèce et non du genre. Nos travaux permettront l'augmentation des connaissances sur les mécanismes de pathogenèse des morbillivirus.

Session III : Virologie

A3.41

IDENTIFICATION DE PROTÉINES IMPLIQUÉES DANS LA POLYADÉNYLATION ALTERNATIVE LORS DE L'INFECTION PAR LE VIRUS HERPÈS SIMPLEX 1.

H. Hyjazie, A. Pearson

INRS - Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Plus de 80% de la population est infectée par le virus de l'herpès simplex 1 (VHS-1). Ce virus qui cause des infections aux muqueuses mène aussi à des infections sévères chez les nouveaux-nés et les individus immuno-supprimés. Le VHS-1 est un virus enveloppé à ADN double brin codant pour plus de 80 gènes, et donc nécessite une régulation génétique efficace. Parmi les modes de régulation employés par le virus est celle de la polyadénylation alternative : une régulation post-transcriptionnelle qui permet au même gène d'utiliser deux sites de polyadénylation différents. Ceci est observé, entre autres, pour les gènes UL24 et UL38 qui utilisent leur propre signal de polyadénylation (signal polyA) ainsi que celui des gènes UL26 et UL40 respectivement. Pour mieux comprendre la régulation de l'expression de ces gènes, nous voulons identifier les protéines interagissant avec la région 3' non-traduite (3' UTR) de ces transcrits. Nous allons utiliser un épitope d'ARN qui est reconnu par la streptavidine, fusionné avec l'ARN correspondant aux 3'UTR des gènes. L'ARN généré sera immobilisé sur billes d'agarose, et cette matrice sera utilisée pour purifier des protéines qui se lient à l'ARN. Nous avons cloné l'épitope de la streptavidine dans pSK-Bluescript ainsi que les 3' UTR d'UL24, UL26, UL38 et UL40. Les 3' UTR codent pour la séquence hexamérique AAUAAA ainsi que les régions en amont et en aval de cette séquence qui seraient potentiellement impliquées dans l'efficacité de la polyadénylation. Les ARNs seront produits par transcription in vitro avec la polymérase d'ARN du phage T3. Des lysats cellulaires seront produits à différents temps post-infection, et les protéines qui interagissent avec les ARNs seront purifiées à l'aide de la colonne streptavidine. Les protéines seront ensuite migrées sur un gel polyacrylamide dénaturant. L'identification des protéines interagissantes sera faite par spectrométrie de masse et par Western blot. Ces expériences nous permettront d'identifier les composantes nécessaires pour moduler l'expression de ces gènes viraux dépendamment du signal polyA favorisé et pourraient expliquer pourquoi ce phénomène est observé durant une infection par le VHS-1.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

A4.43

LA GALECTINE-7 DANS UN MODÈLE DE MÉLANOME MURIN.

K. Biron-Pain et Y. St-Pierre.

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

La galectine-7 est une protéine rarement exprimée dans les tissus de l'adulte, à l'exception des kératinocytes de la peau suite à une exposition aux rayons ultraviolets. Des études récentes ont cependant démontré que la surexpression de galectine-7 jouerait un rôle important dans la progression tumorale. Dépendamment du type de cancer, cette protéine peut avoir un rôle anti-tumoral (cancer du colon) ou pro-tumoral (cancer du sein, lymphome). Étant donné que le mélanome est le plus grave des cancers cutanés et que son incidence a considérablement augmenté ces dernières années, nous avons investigué le rôle de la galectine-7 dans ce type de cancer. Dans un premier temps, un modèle murin de mélanome nous a permis de déterminer que l'expression de la galectine-7 augmente de façon significative dans les tumeurs primaires de cellules de mélanome B16F1 en comparaison avec la lignée cellulaire. L'augmentation de l'expression de galectine-7 suite à un passage *in vivo* est similaire à ce que nous avons observé dans un modèle murin de lymphome. Cependant, cette expression semble transitoire puisqu'elle n'est pas conservée dans la lignée cellulaire plus agressive, B16F10, provenant de la lignée parentale B16F1. De plus, la surexpression de la galectine-7 dans les cellules cancéreuses des tumeurs primaires B16F1 suggère que la galectine-7 a un rôle important dans la progression tumorale. Dans un deuxième temps, nous avons étudié le mécanisme par lequel la galectine-7 module la croissance du mélanome. Pour ce faire, des expériences *in vitro* en vue de déterminer si la galectine-7 a une fonction pro- ou anti-apoptotique ont été réalisées. Des immunobuvardages de type Western pour PARP-1 clivé et la caspase-3 indique que la surexpression de galectine-7 par les cellules B16F1 protégerait ces dernières de l'apoptose induite par la quercétin. De plus, cette surexpression de galectine-7 par les cellules B16F1 semble stimuler l'activation du promoteur *egr-1* (early growth response), un gène associé à la progression tumorale et à l'apoptose. Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que la galectine-7 aurait un rôle pro-tumoral dans un modèle murin de mélanome, par sa fonction anti-apoptotique.

A4.44

LE RÔLE D'EGR-1 DANS LA CROISSANCE DU LYMPHOME THYMIQUE.

F. Bouchard, S.D. Bélanger, K. Biron-Pain et Y. St-Pierre.

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC.

Les interactions cellulaires entre les cellules tumorales et les cellules stromales jouent un rôle important dans la croissance et la dissémination des tumeurs. Ces interactions seraient responsables de l'induction de gènes favorisant la progression tumorale. Grâce à des études au niveau génomique entre les lymphomes et les cellules endothéliales, nous avons démontré que l'expression du gène *egr-1* (early growth response-1) est induite dans les cellules endothéliales en contact avec les cellules de lymphome. EGR-1 est un facteur de transcription impliqué dans divers processus physiologiques et son expression est rapidement induite par des facteurs de croissance et des cytokines. Les signaux responsables de l'induction d'EGR-1 lors des contacts lympho-stromaux dans la croissance du lymphome thymique de même que les conséquences sur le processus tumoral demeurent inconnus. L'objectif général du projet était de déterminer l'importance de l'induction d'EGR-1 dans la croissance du lymphome thymique. En premier lieu, à l'aide d'une co-culture *in vitro* nous avons démontré que le facteur de croissance épidermique (EGF) exprimé par les cellules de lymphome représente un des facteurs pour induire l'expression d'EGR-1 au niveau des cellules stromales. Dans un deuxième temps, nos résultats *in vivo* ont démontré que la surexpression d'EGF par les cellules de lymphome inhibe de façon significative le développement du lymphome thymique. Afin de déterminer le mécanisme impliqué dans cette inhibition, nous avons étudié la relation entre EGF, EGR-1, et MMP-9, ce dernier étant un gène impliqué dans la croissance tumorale, dont le lymphome thymique. L'ensemble de nos résultats ont démontré qu'EGR-1 module négativement la croissance du lymphome thymique en contrôlant l'expression de MMP-9. Cette hypothèse est basée sur les évidences suivantes : (a) à l'aide d'un modèle de souris transgénique qui permet de détecter l'activation de MMP-9 dans les cellules de l'hôte, l'activité transcriptionnelle du promoteur MMP-9 dans les thymus est diminuée par les cellules de lymphome surexprimant EGF, (b) l'ajout d'EGF recombinant induit l'expression d'EGR-1 et diminue celle de MMP-9 dans les cellules stromales, et (c) la transfection d'un vecteur d'expression contenant le l'ADNc d'EGR-1 dans des fibroblastes inhibe l'expression constitutive et induite de MMP-9. Dans l'ensemble, ces résultats mettent en évidence un rôle pour EGR-1 lors des interactions intercellulaires se produisant au cours de la croissance du lymphome thymique.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

A4.45

LOCALISATION NUCLÉAIRE DU RÉCEPTEUR DE L'UROTENSINE II CHEZ LE RAT.

Nguyen T.T. Mai, Myriam Létourneau, Kathy Turcotte, David Chatenet et Alain Fournier
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Laboratoire d'études moléculaire et pharmacologique des peptides
Laboratoire International Associé Samuel de Champlain (INSERM – INRS)

Les maladies cardiovasculaires (MCV), comprenant en autres l'hypertension et l'athérosclérose, constituent la première cause de décès dans le monde. L'urotensine II (UII), le plus puissant vasoconstricteur identifié à ce jour et son récepteur sont impliqués dans l'étiologie de l'hypertension. Des études précliniques ont ainsi montré les effets bénéfiques des antagonistes de l'UII dans certaines maladies rénales, cardiovasculaires, le diabète et les pathologies qui lui sont associées. Jusqu'à tout récemment, les RCPG étaient décrits comme des protéines localisées à la membrane plasmique des cellules. Or, diverses études ont depuis montré une localisation nucléaire des RCPGs associés à des peptides vasoactifs tels l'angiotensine, la bradykinine et l'endothéline. De ce fait, l'UII s'apparentant de très près à ces familles de peptides de par ses actions, nous avons donc entrepris de vérifier la présence au niveau nucléaire du récepteur de l'UII dans divers tissus périphériques et au niveau du système nerveux central. Nous avons ainsi pu mettre en évidence la présence de ce type de récepteur au niveau du tissu cardiaque et du système nerveux central (moelle épinière, cortex, cervelet, hippocampe, pons, hypothalamus) mais pas dans les reins, le foie, le pancréas, la surrénale ou encore le poumon malgré la présence de ce récepteur au niveau membranaire. Nous avons également démontré la haute spécificité de ces sites de liaison pour l'urotensine II et ses analogues démontrant ainsi qu'il s'agit bien du récepteur de l'UII. Cette régionalisation, tout à fait surprenante, fait actuellement l'objet d'une attention particulière afin de mettre en évidence un rôle potentiel de ces récepteurs au niveau physiologique et dans différentes pathologies, en particulier celles du système nerveux central. Nos travaux qui s'inscrivent dans une meilleure compréhension des phénomènes associés à l'activation du système urotensinergique pourraient à terme nous permettre de proposer une alternative thérapeutique pour le traitement de certaines pathologies du système cardiovasculaire et du système nerveux central.

A4.46

LES PROTÉINE S100 ET LEURS RÔLES DANS LE CANCER DU SEIN.

Kevin Cormier, Jason Harquail, Sébastien Fournier, Jeannick O'Brien, Philippe Tessier and Gilles A. Robichaud
Département de chimie et biochimie, Université de Moncton

Au Canada, les femmes ont un plus gros risque de développer le cancer du sein que les autres cancers. Une femme sur trois diagnostiquée va succomber à la maladie. Chez ces cancers, un gros nombre de protéines sont exprimées de façon anormale. Parmi celles-ci, certains membres de la famille de protéines S100 tel que les protéines S100A4, S100A6, S100A7, S100A8, et S100A9 sont surexprimées dans les cancers et même dans des maladies auto-immunes. Plus précisément, S100A8 et S100A9 sont surtout associées aux cancers canaux in situ du sein. Certaines études semblent démontrer que ces protéines sont impliquées dans les voies de prolifération cellulaire, car elles interagissent avec des éléments intracellulaires qui dictent les cascades de la croissance. Très peu est encore connu du rôle des protéines S100A8 et S100A9 dans le cancer du sein. Pour mieux comprendre les relations entre ces protéines et la pathogénèse mammaire, nous avons traité des lignées mammaires cancéreuses et non cancéreuses avec différentes concentrations de protéines S100A8, S100A9 et A8/A9. De plus, nous avons fait des transfections stables de S100A8 et S100A9 dans des lignées mammaires cancéreuses grâce à divers outils moléculaires. Suite à la construction de ces nouveaux modèles cellulaires, nous avons analysé les différents effets phénotypiques, comme la croissance, l'adhésion et l'invasion. Cette recherche démontre l'effet des protéines S100A8 et S100A9 sur le phénotype des cellules mammaires et nous permettra de mieux comprendre leurs rôles dans la pathogénèse du cancer du sein.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

A4.47

UTILISATION D'UN SYSTEME DE LENTIVIRUS DE 2E GENERATION EXPRIMANT MARCH1, UNE E3 UBIQUITIN LIGASE, COMME TRAITEMENT PREVENTIF DU DIABETE DE TYPE 1

¹Tristan Galbas, ²Viktor Steimle, ³Abdelaziz Amrani, ¹Jacques Thibodeau

¹Département de Microbiologie et Immunologie, Université de Montréal, Qc, Canada

²Département de Biologie,

³Département de Pédiatrie, Université de Sherbrooke

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune caractérisée par la destruction des cellules β du pancréas qui produisent l'insuline. Les lymphocytes T, CD4+ et CD8+, sont responsables du bris de tolérance et de l'entrée en phase chronique de plusieurs maladies auto-immunes comme le DT1. Nous avons récemment démontré que la protéine MARCH1 est la molécule responsable de l'inhibition de la présentation antigénique dans les cellules dendritiques (DC) et les monocytes primaires humain en réponse à l'IL-10. Les molécules de la famille MARCH sont des E3 ubiquitine ligases qui modulent les réponses immunitaires en prévenant l'expression de surface de molécules membranaires par ubiquitination. MARCH1 reconnaît spécifiquement le CMH de classe II et CD86, causant ainsi leur rétention intracellulaire et prévenant donc l'activation des cellules T. Notre hypothèse est que MARCH1 pourrait conférer des caractéristiques tolérogéniques aux cellules dendritiques et ainsi prévenir l'activation de cellules T autoréactives entraînant le déclenchement du diabète de type 1. Nous avons développé un système de lentivirus de 2^{ième} génération exprimant MARCH1 murin ou humain et un mutant inactif de la molécule afin de transduire efficacement des cellules primaires. Les souris diabétiques non obèses (NOD) développent spontanément le diabète de type 1 et seront donc utilisées comme modèle animal pour ce projet. Nous présenterons des résultats sur l'efficacité de transduction des lentivirus en lignées cellulaires, en cellules primaires humaines et en cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse de souris. De plus, nous présenterons l'effet de la transduction de MARCH1 sur la baisse du CMH de classe II dans plusieurs types cellulaires comme des monocytes, des cellules B et des cellules dendritiques, validant ainsi la fonctionnalité du système utilisé. Ces résultats permettront de déterminer si les DC exprimant M1 peuvent être utilisées afin d'induire des propriétés tolérogéniques aux lymphocytes T. Cette hypothèse sera confirmée par la greffe des DC-M1 chez les souris NOD.

A4.48

EFFET DES COMPOSÉS DE LA GRENADE SUR LA PROLIFÉRATION ET L'ACTIVITÉ DES ENZYMES STÉROÏDIENNES DES CELLULES LNCaP ET H295R.

Gasmi J et Sanderson T

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Le cancer de la prostate est la deuxième cause de mortalité chez les hommes atteints de cancer dans les pays développés. Il est de plus en plus diagnostiqué grâce au test spécifique à la PSA. C'est un cancer initialement hormono-dépendant et sa prolifération est stimulée par les androgènes et les œstrogènes. Deux enzymes responsables de leur synthèse et qui présentent le plus d'intérêt sont l'aromatase (CYP19) et la 5 α -réductase (SRD5A1). En effet, CYP19 permet la conversion des androgènes en œstrogènes et la SRD5A1 transforme la testostérone en DHT (dihydrotestostérone). Les composés naturels provenant de la grenade semblent retarder la progression du cancer de la prostate. Ils pourraient agir comme des inhibiteurs des enzymes d'intérêt. Ils ont été testés sur deux modèles cellulaires : les LNCaP qui sont des cellules cancéreuses de la prostate et les H295R qui sont des cellules cancéreuses de la corticosurrénale. Les cellules LNCaP et H295R sont mises en culture dans des plaques de 96 puits à une densité de 10⁴ cellules/puit en présence des composés de la grenade dilués au DMSO à 1, 3, 10, 30 et 100 μ M et un contrôle négatif avec du DMSO seulement à 0.1% (v/v). Les LNCaP sont exposés deux fois aux composés de la grenade en présence de DHT avec des intervalles de 48h entre chaque exposition afin de déterminer l'effet antiprolifératif, tandis que H295R sont exposés une fois au bout de 24h d'incubation pour déterminer l'effet cytotoxique. 13 composés de la grenade ont été testés sur les deux modèles cellulaires. La cytotoxicité et l'effet antiprolifératif des composés sont déterminés par un test colorimétrique (WST-1). De plus l'activité enzymatique de CYP19 est déterminée dans les cellules H295R exposés aux composés de la grenade grâce à un radiomarquage au tritium. Les courbes concentration/réponse permettent de déterminer l'effet cytotoxique et antiprolifératif de chaque composé. En effet, le kaempferol a un effet antiprolifératif sur les cellules LNCaP, mais n'est pas cytotoxique. Il diminue l'expression du gène de la PSA et de la SRD5A1 à 10 μ M dans les cellules LNCaP. Il augmente l'activité enzymatique de CYP19 dans les cellules H295R de 77 % par rapport au contrôle négatif à 10 et 30 μ M. Le kaempferol augmente l'expression du gène de CYP19 à 10 et 30 μ M dans les cellules H295R. Les résultats préliminaires démontrent que le kaempferol a un effet antiprolifératif sur les cellules LNCaP. De plus, il augmente significativement l'activité enzymatique de CYP19 à 10 et 30 μ M dans les cellules H295R sans avoir un effet cytotoxique. Ces résultats vont être complétés par la détermination de l'activité des autres enzymes d'intérêt dans les deux types cellulaires exposés aux composés de la grenade.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

A4.49

LA GALECTINE-7 : UN MARQUEUR D'INTÉRÊT DANS LE CANCER DU SEIN HUMAIN

¹A.-A. Grosset, ²L. Gaboury, ¹Y. St-Pierre

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

²Institut de recherche en immunologie et en oncologie (IRIC), Université de Montréal, Montréal, Canada

Les galectines (Gal) sont une famille de lectines ayant une affinité pour la β -galactoside. Leurs fonctions sont reliées, entre-autres, aux interactions cellule-cellule et cellule-matrice, et à la transformation néoplasique. L'équipe du Dr St-Pierre a démontré la surexpression de la galectine-7 (Gal-7) dans les lymphomes murins agressifs comparés aux cellules parentales non-agressives. De plus, la Gal-7 augmente la croissance et la dissémination des cellules de lymphome *in vivo*. Lu et collaborateurs ont démontré que la Gal-7 est surexprimée dans les cancers mammaires chez le rat. Dans notre étude, nous recherchons l'expression de la Gal-7 dans les cancers du sein humains. Une cohorte de carcinomes mammaires humains de haut et bas grade a été utilisée pour construire des micromatrices tissulaires. Suite au marquage immunohistochimique de la Gal-7, une évaluation du pourcentage de cellules positives a été effectuée par un pathologiste. Dans le cancer du sein, l'intensité du marquage et le nombre de cellules positives (c.p.) varient selon le groupe. Pour les carcinomes de haut grade, 32/58 ont <10% c.p., 18/58 ont 10-70% c.p. et 8/58 ont >70% c.p. Par comparaison, aucun des 34 cancers du sein de bas grade (0/34), observé dans cette étude, n'exprime la Gal-7. Nous démontrons que la Gal-7 est exprimée à des niveaux variables dans les carcinomes du sein humains de haut grade. En contraste, aucun marquage significatif n'a été observé dans les carcinomes du sein humains de bas grade. Projet subventionné par les IRSC

A4.50

ANTÉCÉDENT MÉDICAL D'ASTHME OU D'ECZÉMA ET RISQUE DE CANCER : UNE ÉTUDE CAS-TÉMOINS À BASE POPULATIONNELLE.

^{1,2}Khady Kâ, ¹El-Zein, ¹Marie-Elise Parent, ³Jack Siemiatycki, ¹Yves St-Pierre, ¹Marie-Claude Rousseau

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc,

²Université McGill,

³Université de Montréal

Les études épidémiologiques portant sur une relation possible entre les maladies allergiques et le risque de cancer ont généré des résultats équivoques, suggérant un effet préventif, néfaste, ou l'absence d'effet. Nous avons étudié l'association entre un antécédent médical d'asthme ou d'eczéma et le risque de cancer à partir d'une étude cas-témoins à base populationnelle menée dans les années 1980 chez des hommes de la région de Montréal métropolitain. Des entrevues avec les participants ont permis d'obtenir de nombreuses informations, notamment concernant un diagnostic médical d'asthme ou d'eczéma, l'utilisation de médicaments pour ces conditions ainsi que plusieurs autres facteurs. Ces données ont été recueillies auprès de 3300 cas de cancers et 512 témoins. La régression logistique a été utilisée afin d'estimer les ratios de cotes ajustés (RC) ainsi que leur intervalle de confiance à 95% (IC) pour l'association entre un antécédent d'asthme ou d'eczéma, et le risque de cancer (tous types de cancer confondus et individuellement pour les 8 cancers les plus fréquents : les cancers de l'estomac, colon, rectum, poumon, prostate, vessie, ainsi que le mélanome et lymphome non-hodgkinien). Lorsque la présence de maladie allergique était définie par un diagnostic d'asthme ou d'eczéma et l'utilisation de médication pour son contrôle, nous avons observé une tendance protectrice de l'effet de l'asthme (RC=0.72 ; 95% IC=0.5- 1.1) et de l'eczéma (RC=0.66 ; 95% IC=0.4- 1.1) contre le cancer, tous types confondus. Par ailleurs, les RCs mesurant l'association entre un antécédent d'asthme ou d'eczéma et la plupart des types individuels de cancer étaient inférieurs à 1.0. Cependant, seuls deux RCs ont démontré une association négative statistiquement significative, suggérant un effet protecteur de l'asthme contre le cancer de l'estomac RC=0.27 (95% IC=0.1-0.9) et de l'eczéma contre le cancer du poumon RC=0.34 (95% IC=0.2- 0.7). Ces résultats tendent à corroborer l'hypothèse selon laquelle les maladies allergiques, résultant de l'hyper-réactivité du système immunitaire, pourraient mener à une élimination plus efficace des cellules anormales et donc diminuer le risque de cancer.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

A4.51

RÔLE POSSIBLE DE LA VOIE JAK/STAT DANS LA RÉGULATION DE LA PRODUCTION DE L'HORMONE GONADOTROPINE CHORIONIQUE PAR LES TROPHOBLASTES HUMAINS.

K. Leduc, P. Leclerc, J. Lafond, E. Asselin et C. Reyes-Moreno

Université du Québec à Trois-Rivières, Laboratoire de recherche en immunologie et oncologie, Trois-Rivières, Qc, Canada

L'hormone gonadotropine chorionique (hCG) est un des facteurs essentiels à la différenciation du trophoblaste et à l'implantation de l'embryon. Cependant, la régulation de son expression par d'autres facteurs gestationnels comme le «leukemia inhibitory factor» (LIF), les «colony stimulating factors» (M-CSF et GM-CSF) et les interleukines est peu étudiée et documentée. Le but de l'étude est de déterminer l'effet de la forskoline et des facteurs LIF, GM-CSF, M-CSF et IL-10, seuls ou combinés, sur la viabilité/prolifération et la production de hCG chez les trophoblastes humains et d'identifier les membres de la voie JAK/STAT activés en réponse à ces facteurs gestationnels. MÉTHODES : les lignées trophoblastiques humains Jeg-3 et BeWo ont été différenciées avec la forskoline et les tests de prolifération ont été réalisés par MTT et le dosage de hCG par Elisa; l'activation de la voie JAK/STAT a été bloquée à l'aide des inhibiteurs pharmacologiques et étudiée par des immunobuvardage. RÉSULTATS : En réponse à la forskoline, les cellules BeWo expriment davantage de hCG que les cellules Jeg-3. La forskoline a peu d'effet sur la viabilité des cellules Jeg-3 mais diminue celle des cellules BeWo, sensibles aux variations du sérum dans le milieu de culture. En réponse à LIF, GM-CSF, M-CSF et IL-10, le nombre de cellules Jeg-3 et BeWo vivantes ne varie pas à des doses de 1 ou 10 ng/ml mais diminue significativement à 100 ng/ml. L'analyse du rapport hCG/nombre de cellules démontre que LIF et IL-10 diminuent alors que M-CSF et GM-CSF augmentent l'expression de hCG. Les études de signalisation démontrent qu'en réponse à LIF, les facteurs de transcription Stat-1 et Stat-3 sont activés au maximum après 15-30 minutes de stimulation alors que l'expression de Socs-3 est détectable après 1h de stimulation. CONCLUSIONS : Nos résultats suggèrent que la sécrétion de hCG induite chez les trophoblastes humains par la forskoline est diminuée en présence de LIF et IL-10 ou augmentée par GM-CSF et M-CSF. L'effet de LIF sur l'expression de hCG peut impliquer l'activation de Stat1 et/ou Stat3 et une régulation négative par la protéine Socs3.

A4.52

L'IMPLICATION ONCOGÉNIQUE DU GÈNE Pax-5 DANS LES CELLULES CANCÉREUSES MAMMAIRES.

Pierre O'Brien, Kevin Cormier, Rémi Richard, Sébastien Fournier, Jeannick O'Brien, Mark LaFlamme, Rodney Ouellette and Gilles A. Robichaud

Département de chimie et biochimie, Université de Moncton, Moncton, N-B, E1A 3E9 Canada

Atlantic Cancer Research Institute, Moncton, NB, E1C 8X3 Canada

Au Canada, une femme sur neuf est prédisposée à développer le cancer du sein alors qu'une femme sur trois en succombera. L'identification d'éléments moléculaires et des voies de signalisations impliqués dans l'oncogenèse mammaire s'avère essentielle au montage de thérapies efficaces contre cette maladie. Le gène Pax-5 code pour un facteur de transcription qui est normalement exprimé chez les lymphocytes B et le système nerveux central. L'expression aberrante de Pax-5 est associée au développement de divers types de cancers, notamment les neuroblastomes, les lymphomes B et différents types de carcinomes. Malgré la corrélation qui existe entre l'expression anormale de Pax-5 et la progression du cancer, les mécanismes par lesquels cet oncogène manifeste ses effets pathologiques sont peu connus. Récemment, l'expression de Pax-5 fut révélée chez des lignées cellulaires mammaires cancéreuses de même qu'au niveau de tissus cliniques de carcinomes mammaires. On s'est alors intéressé à l'étude de l'implication de l'oncogène Pax-5 dans les processus oncogéniques du cancer du sein. Des résultats préliminaires démontrent que la surexpression de Pax-5 mène ultimement à un rythme accru de prolifération chez une lignée cellulaire mammaire. Ces résultats suggèrent fortement l'implication de Pax-5 dans les processus cancéreux observés dans les tissus mammaires. Comme perspectives futures, différentes analyses phénotypiques et moléculaires seront menées sur des modèles cellulaires mammaires dans lesquels il y a surexpression ectopique de Pax-5. Cette étude permettra ainsi une compréhension approfondie des implications d'un oncogène connue (Pax-5) dans le cancer du sein dans l'espoir de pouvoir contribuer au développement de cibles thérapeutiques efficaces contre cette maladie épidémique.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

A4.53

PRÉVALENCE DE L'ENDOMÉTRIOSE, L'INFERTILITÉ ET LEUR ASSOCIATION DANS LA RÉGION DE L'ESTRIE, QUÉBEC, CANADA : UNE ÉTUDE DE COHORTE SUR 10 ANS.

¹Krystel Paris & Aziz Aris

¹Département d'obstétrique-gynécologie, Centre de recherche clinique du Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke, Québec, Canada.

Bien qu'une augmentation de l'incidence de l'endométriose soit rapportée en clinique au cours des dernières années, aucune étude épidémiologique récente ne confirme cette tendance. Le but de cette étude était d'investiguer les caractéristiques de l'association entre l'endométriose et l'infertilité parmi les femmes vivant dans la région de l'Estrie (Québec), diagnostiquées au cours des 10 dernières années. Cette étude transversale rétrospective a été réalisée à partir de données issues du système CIRESS (Centre Informatisé de Recherche Évaluative en Services et Soins de Santé), base de données du CHUS (Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke), Sherbrooke, Canada. Parmi les 6845 patientes étudiées, 2564 étaient atteintes d'endométriose, 4537 d'infertilité et 256 des deux conditions. Nous avons démontré une prévalence de l'endométriose de 10.91%. Une augmentation significative du nombre de cas d'endométriose ($r^2 = 0.717$, $P = 0.001$) et d'infertilité associée à l'endométriose ($r^2 = 0.601$, $P = 0.003$) a été notée au cours des 10 dernières années, alors que l'infertilité est demeurée stable ($r^2 = 2,813e-005$, $P = 0.987$). Les femmes avec endométriose étaient plus à risque d'être infertile que la population féminine générale (OR = 2.30 ; 95% CI = 2.014-2.626, $P < 0.0001$). Une augmentation de l'endométriose chez les femmes âgées entre 18 et 24 ans a été démontrée ($r^2 = 0.418$, $P = 0.023$), suggérant un début de plus en plus précoce de la maladie.

A4.54

AUTORÉGULATION DE L'EXPRESSION ET LA FONCTION DE MARCH1, UNE E3 UBQUITINE LIGASE, PAR DIMÉRISATION ET AUTOUBIQUITINATION

M. Bourgeois-Daigneault, AJ. Thibodeau.

Département de Microbiologie et Immunologie, Université de Montréal

Les molécules de la famille MARCH sont des E3 ubiquitine ligases responsables de l'ubiquitination et de l'endocytose de protéines membranaires impliquées dans les réponses immunitaires. Nous avons récemment identifié MARCH-1 comme étant responsable de la rétention intracellulaire du CMH de classe II en réponse à l'IL-10 dans les monocytes primaires humains. Les mécanismes de régulation de l'expression des MARCHS sont peu connus, mais il a été démontré que MARCH9 s'autoubiquitine, causant ainsi sa dégradation protéasomale. Malgré une induction transcriptionnelle de MARCH1 de 40 fois suite à une stimulation à l'IL-10 dans les monocytes primaires humains et l'utilisation d'anticorps fonctionnels en systèmes de surexpression, nous n'avons jamais détecté la molécule endogène. De plus, la surexpression de mutants inactifs de MARCH1 montre des niveaux plus élevés et une demie-vie plus longue en comparaison avec la molécule sauvage. Ceci suggère la présence de mécanismes d'autorégulation de MARCH1. Le but de cette étude était d'investiguer l'existence et de caractériser les mécanismes d'autorégulation chez MARCH1. Nos résultats ont révélé l'ubiquitination de MARCH1 et l'utilisation d'inhibiteurs de dégradation a permis d'identifier le mécanisme comme étant dépendant de l'activité lysosomale. De plus, la co-expression de la molécule sauvage entraînait la diminution de l'expression des mutants inactifs, suggérant la possibilité de trans-régulation par formation de multimères. Nous avons démontré la formation d'homodimères de MARCH1 et d'hétérodimères avec d'autres membres de la famille MARCH par IP et BRET. Nous avons généré des mutants ponctuels pour chacune des lysines cytoplasmiques de MARCH1 et un mutant ne comportant aucune lysine (MARCH1 K-0) afin d'identifier les résidus ciblés. Les résultats n'ont permis l'identification d'aucune lysine comme étant spécifiquement ubiquitinée. Néanmoins, MARCH1 K-0 était plus fortement exprimé et l'absence de lysines entraînait une diminution de l'activité, démontrant ainsi l'importance de l'ubiquitination dans la fonction de celle-ci. Nos résultats démontrent que MARCH1 forme des dimères qui permettent son auto-ubiquitination de même que la régulation de son expression et de sa fonction.

Session IV : Biologie cellulaire et moléculaire

A4.55

EXPRESSION DES RÉCEPTEURS PLACENTAIRES DE LA MÉLATONINE AU COURS DE LA GROSSESSE ET DE LA DIFFÉRENCIATION DU TROPHOBLASTE VILLEUX

Andrée-Anne Lacasse, Dave Lanoix et Cathy Vaillancourt.
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, QC.

La mélatonine jouerait un rôle protecteur dans les fonctions placentaires et de ce fait sur le développement fœtal. Nos travaux ont démontré que le trophoblaste placentaire humain à terme synthétise *de novo* la mélatonine et exprime les récepteurs mélatoninergiques. À ce jour, le système mélatoninergique n'a pas été étudié au cours du développement du placenta. Nous proposons que : (1) les récepteurs de la mélatonine sont exprimés tout au long de la grossesse dans le placenta et (2) l'expression des récepteurs placentaires de la mélatonine varie au cours de la différenciation du trophoblaste villositaire (fusion des cytotrophoblastes villositaires mononucléés en syncytium plurinucléé). Pour vérifier ces postulats, l'expression des récepteurs de la mélatonine a été caractérisée par RT-PCR en temps réel (ARNm) et immunobuvardage de type Western (protéine). Les résultats démontrent que les récepteurs de la mélatonine (MT1, MT2 et ROR α) sont exprimés (ARNm et protéine) dans les tissus placentaires provenant des 1^{er}, 2^e et 3^e trimestres de la grossesse. L'ARNm des récepteurs MT2 et ROR α est significativement plus exprimé dans les placentas à terme comparés au 1^{er} et 2^e trimestre de la grossesse. Les études de différenciation réalisées à l'aide de cultures primaires de cytotrophoblastes villositaires isolées de placentas normaux à terme montrent une augmentation significative de l'expression de l'ARNm des récepteurs MT2 et ROR α dans le syncytiotrophoblaste (jour 4 de culture) comparé aux cytotrophoblastes villositaires (jour 1 de culture), tandis que l'ARNm du récepteur MT1 ne varie pas significativement. Ces résultats suggèrent que la mélatonine joue un rôle important dans la différenciation du trophoblaste villositaire ainsi que dans le placenta au cours de la grossesse. La poursuite de ces travaux permettra de mieux cibler le rôle de la mélatonine et de ses récepteurs placentaires et dans la grossesse normale et pathologique, et par conséquent dans le développement fœtal. Subventionné par le CRSNG et par une bourse de la FAF à AAL.

A4.56

BACOPA MONNIERA EXTRACT PROTECTS AGAINST OXIDATIVE STRESS AND MITOCHONDRIAL DYSFUNCTIONS INDUCED BY MPP+, ROTENONE AND H₂O₂.

M Singh and C Ramassamy
INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Parkinson's disease (PD) is one of the most common forms of neurodegenerative diseases affecting millions of people worldwide. Oxidative stress (OS) and mitochondrial dysfunctions play an important role in the pathophysiology and progression of PD. Recently natural antioxidants from fruits, vegetable and herbs have shown neuroprotection both in vitro and in vivo models of PD. Here we present our data on the neuroprotective activity of one of the Indian medicinal plants i.e. *Bacopa monniera* (BM) on SK-N-SH cells. We investigated the neuroprotective effects of BM against 1-methyl-4-phenyl-pyridinium (MPP+), rotenone and hydrogen peroxide (H₂O₂) - induced toxicity. MPP+ and rotenone are widely used toxins *in vitro* and in animal models of PD. Using cell survival assay, XTT test our results demonstrated that the BM extract can protect SK-N-SH cells against H₂O₂ (50 μ M), Rotenone (1.0 μ M) or MPP+ (0.5mM)-induced toxicity. These protections were completed with the toxicity test LDH. MPP+ is known to induce cell toxicity by disrupting the mitochondrial activity. Therefore, we have investigated the effect of BM on the mitochondrial membrane potential (MMP) with the JC1. We found that the BM extract significantly protected against the MPP+-induced loss of MMP. Our results also show that the BM extract could also prevent the opening of mitochondrial permeability pore. BM extract also activated Sirt1, HO-1, p-AKT, pERK1/2 and Nrf2 pathways which are regulated by OS and have been implicated in PD. In conclusion, our data suggest that the BM extract can protect neurons against MPP+, Rotenone and H₂O₂- induced neurotoxicity through different mechanisms, by decreasing OS, preserving mitochondrial functions and by regulating the activities of redox sensitive pathways. Further ongoing studies are likely to elucidate additional mechanisms involved in the neuroprotection and its application in the prevention of PD.

Session V : Toxicologie et Pharmacochimie

A5.57

EFFET DE L'EXPOSITION *IN VITRO* DES CELLULES IMMUNITAIRES ET DES CULTURES PRIMAIRES D'HÉPATOCTES DE LA TRUITE ARC EN CIEL (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) AUX EAUX SOUTERRAINES DE MERCIER.

¹N.Benchalgo, ¹M.Fortier, ²F. Gagné, ¹P.Brousseau, ¹M.Fournier.

¹INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc

²Environnement Canada, 105 Mc Gill, Montréal, Québec, Canada, H2Y 2E7.

Mercier est une localité située au sud de Montréal qui possède un incinérateur de produits toxiques. Rappelons que dans les années 60, des tonnes d'huiles usées ont été déversées dans les lagunes de Mercier ainsi, plusieurs composés organiques toxiques: (biphényles polychlorés (BPC), pesticides, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP (naphtalène...), dibenzofuranes polychlorés (PCDF), dibenzo-p-dioxines (PCDD)), sont présents dans l'environnement. Notre projet vise une étude toxicologique des eaux souterraines de Mercier. La première partie de notre étude consiste à évaluer *in vitro* les effets des xénobiotiques présents dans l'effluent de l'unité de traitement des eaux souterraines (UTES) sur les cellules du système immunitaire et les cultures primaires d'hépatocytes de la truite arc en ciel. L'immunocompétence est évaluée par le suivi de trois paramètres : La phagocytose, les cellules cytotoxiques (NK) et la prolifération lymphoblastique par stimulation au mitogène. Pour la mesure de la viabilité des hépatocytes, des cultures primaires d'hépatocytes sont préparés à partir d'au moins trois poissons pour atténuer la variabilité inter-individuelle, elles sont exposées à l'effluent 48H à 15° à l'obscurité. Après cette période d'incubation, la viabilité cellulaire est déterminée par un test de fluorescéine diacétate. Il ressort que les résultats révèlent une diminution significative de l'efficacité des cellules à phagocyter pour la dilution 50% après une pré-incubation de 3h avec l'effluent. Pour le test de cytotoxicité des NK, aucun effet significatif n'a été observé. Par contre, la prolifération lymphoblastique en réponse à l'activation à la PHA a été affectée de manière significative par la diminution de la prolifération des lymphoblastes. Par ailleurs, l'exposition des cultures primaires d'hépatocytes aux effluents a montré une diminution significative dans la viabilité. Pour conclure, les eaux de Mercier non traitées ont le potentiel de produire une réponse à certains biomarqueurs utilisés dans l'étude *in vitro* sur la truite

A5.58

EFFICACITÉ D'UN PROCÉDÉ MEMBRANAIRE POUR LE TRAITEMENT DES EAUX USÉES.

¹Hamida Djouder, ¹Marlène Fortier, ¹Michel Fournier, ¹Pauline Brousseau, ²Patrick Cejka, ³Rémi Lebrun.

¹ INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

²Station d'épuration des eaux usées, 12001 Maurice-Duplessis, Montréal, Québec, Canada H1C 1V3

³Université du Québec à Trois-Rivières 3351, boul. des Forges, C.P. 500, Trois-Rivières, Québec, Canada G9A 5H7

Depuis quelques années les gouvernements encouragent les entreprises à trouver de meilleures techniques pour la filtration des eaux usées ou contaminées. La recherche de nouvelles technologies de traitement des eaux plus efficaces et plus écologiques est l'un des plus importants enjeux de notre société moderne, autant sur le plan économique que social. L'eau est de plus en plus polluée et le phénomène d'urbanisation entraîne des quantités d'effluents à traiter qui augmentent sans cesse. Il devient donc nécessaire de trouver une technique qui est à la fois efficace, durable et économiquement rentable. Notre projet consiste à évaluer l'efficacité et la capacité d'un système de filtration membranaire à traiter des effluents industriels et domestiques. La première partie est consacrée à la filtration d'effluents de la Station d'épuration de la Ville de Montréal par des membranes de nano-filtration (Hayka, Montréal). Suite aux filtrations, des tests colorimétriques ont été réalisés, pour déterminer les propriétés physico-chimiques des eaux filtrées. Dans la deuxième partie, des bactéries (*Vibrio fischeri*), des algues (*Pseudokirchneriella subcapitata*) et des cellules immunitaires de truite mouchetée (*Salvelinus fontinalis*) ont été exposées aux eaux traitées. L'observation de la viabilité de ces trois espèces a permis d'analyser la toxicité des eaux traitées. De plus l'influence de ces eaux sur la phagocytose chez la truite a été étudiée. D'une part, la membrane fine a éliminé complètement l'azote ammoniacal. D'autre part, aucun effet d'inhibition significatif de la luminescence n'a été observé avec les bactéries *V. fischeri* exposées aux eaux filtrées par les membranes standard et fine. Enfin, l'eau filtrée par la membrane fine n'a pas affecté la viabilité et la phagocytose des cellules de truites mouchetées, alors que celle traitée par la membrane standard a induit un effet significatif sur la phagocytose.

Session V : Toxicologie et Pharmacochimie

A5.59

LE PITUITARY ADENYLATE-CYCLASE ACTIVATING POLYPEPTIDE : THÉRAPIE POTENTIELLE POUR LES MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES.

Duc Doan Ngoc, David Chatenet, Myriam Létourneau, et Alain Fournier

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Laboratoire d'études moléculaire et pharmacologique des peptides

Laboratoire International Associé Samuel de Champlain (INSERM – INRS)

Le PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) a été initialement isolé sur la base de sa capacité à stimuler la production d'AMPc dans des cellules anté-hypophysaires en culture. Participant à la régulation de nombreux phénomènes physiologiques, le PACAP exerce ses effets via l'activation de trois récepteurs couplés aux protéines G : PAC1, VPAC1 et VPAC2. En agissant comme inhibiteur de la voie de la caspase-3, suite à l'activation du récepteur PAC1, le PACAP s'est avéré être un puissant agent anti-apoptotique. *In vitro*, le PACAP réduit considérablement la neurodégénérescence induite par l'exposition à certains agents neurotoxiques (H₂O₂, glutamate, éthanol, céramides, MPP+) et procure *in vivo* un effet neuroprotecteur dans certains modèles d'atteintes du cerveau (ischémie, Parkinson, Huntington, Alzheimer, trauma). Le PACAP est ainsi capable de réduire de 50% la zone d'infarctie même après avoir été administré 4h après le début de l'ischémie. De par sa caractère hydrophile et la présence d'un transporteur spécifique, le PACAP est capable de traverser la barrière hémato-encéphalique en faisant ainsi un très bon candidat pour le traitement de diverses maladies ou atteintes du système nerveux central. Dans cette étude, nous examinerons le potentiel thérapeutique du PACAP et à démontrer l'intérêt de développer des analogues sélectif et stables de ce neuropeptide. Des modifications spécifiques ont été effectuées au niveau du domaine N-terminal du peptide. Ces analogues sont ensuite évalués afin d'établir leur capacité à lier et à activer chacun des trois sous-types de récepteurs PAC1, VPAC1 et VPAC2. Nos résultats confirment le caractère essentiel des résidus His1, Asp3, Leu5 et Phe6 dans la liaison et l'activation du PACAP aux différents récepteurs. De plus, des modifications à la position 7 du peptide pourraient moduler la sélectivité des analogues pour les récepteurs PAC1 et VPAC1. Ce résultat est une piste importante pour le développement d'analogues sélectifs PAC1, qui pourraient avoir des applications thérapeutiques dans le traitement de pathologies neurodégénératives.

A5.60

TENEURS EN MÉTAUX LOURDS DES POISSONS VENDUS DANS LA RÉGION DE LA BAIE DES CHALEURS, NOUVEAU-BRUNSWICK

¹Fraser, M., ¹Surette, C. et ²Vaillancourt, C.

¹Département de chimie et de biochimie, Université de Moncton, Moncton, Nouveau-Brunswick

²INRS-Armand-Frappier, Laval, Qc.

Les métaux lourds peuvent avoir des effets nuisibles sur le bien-être et la santé des humains. Or, les poissons et les fruits de mer, aliments importants à une bonne santé, bioaccumulent les métaux lourds. Les poissons et les fruits de mer consommés par le public sont principalement achetés dans les épiceries et les poissonneries. Néanmoins, peu d'études ont examinées les concentrations de métaux lourds dans les produits halieutiques commerciaux. Les objectifs de cette étude sont d'établir l'origine des poissons et fruits de mer vendus dans la région de la Baie des Chaleurs et de déterminer leurs concentrations en métaux lourds. En 2008, des entrevues ont été menées auprès de 8 commerçants de la Baie des Chaleurs. Nous avons ensuite acheté les produits halieutiques les plus vendus pour fin d'analyses. Nos résultats montrent que 36% des espèces de poissons et fruits de mer vendus dans ces commerces proviennent de la Baie des Chaleurs. Les homards, les crevettes, les pétoncles et les huîtres sont les espèces les plus consommées. Dans les homards, les concentrations de cadmium et de cuivre sont plus élevées dans l'hépatopancreas que dans les autres organes. Les concentrations d'aluminium, de fer et de manganèse sont six fois plus élevées dans les moules en conserve que les moules fraîches. Aucune concentration de métaux dans les échantillons prélevés dépassent les doses journalières admissibles mises en place par l'Organisation Mondiale de la Santé pour un adulte qui consomme deux portions de poissons et de fruits de mer par semaine. Cependant, les groupes à risques, tels que les jeunes enfants et les grands consommateurs devraient considérer dans le choix des espèces, la grosseur des portions et la fréquence de consommations des fruits de mer.

Session V : Toxicologie et Pharmacochimie

A5.61

POISONS NATURELS OU MÉDECINE DE DEMAIN : IDENTIFICATION DE DEUX TOXINES À FORT POTENTIEL THÉRAPEUTIQUE DANS LE VENIN DU SERPENT NAJA KAOUTHIA.

Nhung Thi-Tuyet Nguyen, Myriam Létourneau, David Chatenet et Alain Fournier

INRS-Institut Armand-Frappier, Laval, Qc.

Laboratoire d'études moléculaire et pharmacologique des peptides

Laboratoire International Associé Samuel de Champlain (INSERM – INRS)

Au cours de l'évolution, les espèces venimeuses ont développé des stratégies extrêmement sophistiquées pour se nourrir et/ou se protéger. Cette pression évolutive a abouti à la production de nombreuses toxines capables d'altérer d'importantes fonctions physiologiques via une action spécifique et simultanée sur diverses cibles biologiques. Le venin de ces prédateurs a d'ores et déjà permis l'identification de nombreuses substances (antidiabétique, anticoagulant, analgésique) dont la sélectivité dépasse souvent celle de certains agents pharmacologiques actuels. Au sein de notre laboratoire, nous nous intéressons plus particulièrement à l'identification de nouveaux agents insulinothropes et neurodifférenciateurs isolés à partir de *Naja kaouthia*, un cobra retrouvé entre autres au Vietnam. Dans un premier temps, les peptides et protéines du venin de cobra ont été semi-purifiés par tamis moléculaire. Ensuite, nous nous sommes concentrés sur la fraction contenant des polypeptides de masses comprises entre 3kDa et 10kDa. Ces derniers ont été ensuite purifiés par HPLC sur phase inverse et analysés par spectrométrie de masse. L'activité insulinothrope de chaque fraction post HPLC a été mesurée au moyen d'une lignée dérivée de cellules pancréatiques β nommée INS-1E. Également, puisque la présence de molécules de type NGF-like a été observée dans de nombreux venins, nous avons vérifié avec la lignée cellulaire PC12, laquelle représente un modèle de différenciation de cellules nerveuses, l'effet de nos différentes fractions sur la croissance des neurites. Les premiers résultats ont montré qu'une fraction est capable de stimuler la sécrétion d'insuline, et ce même en absence de glucose. Elle pourrait donc avoir un intérêt indéniable dans le développement d'un nouveau traitement du diabète de type II insulino-dépendant. De même, 3 fractions, distinctes de la précédente, se sont avérées aptes à stimuler la croissance des neurites dans des cellules PC12, rendant ces molécules potentiellement avantageuses dans le traitement de maladies neurodégénératives.

A5.62

CONCEPTION ET CARACTÉRISATION DE MODULATEURS DU SYSTÈME UROTENSINERGIQUE.

David Chatenet, Myriam Létourneau et Alain Fournier

INRS – Institut Armand-Frappier

Laboratoire d'études moléculaire et pharmacologique des peptides

Laboratoire International Associé Samuel de Champlain (INSERM – INRS)

L'urotensine II (UII), peptide cyclique initialement isolé à partir de l'urophyse des poissons téléostéens, est considérée comme le plus puissant vasoconstricteur identifié à ce jour. Bien que l'UII soit connue chez les poissons depuis 1980, il a fallu attendre la fin des années 90 pour découvrir son récepteur; un RCPG orphelin humain, dont l'orthologue de rat est connu sous le nom de GPR14. Dans les conditions physiopathologiques, les effets inotropes et hypertrophiques de l'UII semblent contribuer au développement de l'insuffisance cardiaque. De plus, la présence de l'UII et/ou l'URP (Urotensin Related Peptide) dans les motoneurons suggère que ces peptides pourraient être impliqués dans la modulation de l'activité neuromusculaire, en conditions normales et/ou pathologiques. Le système urotensinergique présente donc un potentiel clinique énorme dans la prévention et le traitement de différentes pathologies. Des études précliniques ont ainsi montré les effets bénéfiques des antagonistes de l'UII dans diverses maladies. Cependant, des études indiquent qu'il pourrait exister un autre récepteur de l'UII. En effet, l'UII a un pouvoir vasodilatateur dix fois plus important que son pouvoir vasoconstricteur, ce qui pourrait résulter d'une différence d'affinité du peptide pour deux récepteurs distincts, d'où l'intérêt de développer également des agonistes du système urotensinergique. Dans cette étude, nous décrivons la conception rationnelle de nouveaux agonistes peptidiques contraints de l'URP. Les différents analogues synthétisés ont ensuite été évalués dans divers systèmes pour évaluer leur profil pharmacologique; la première phase consistant à mesurer l'affinité de chaque analogue pour son récepteur puis à tester les composés capables de se lier dans un modèle *ex vivo* de contraction d'anneaux d'aorte de rat. Au cours de cette étude nous avons ainsi pu identifier plusieurs modifications permettant de générer de puissants analogues de l'URP. La conception de ligands agonistes et antagonistes du GPR14 devrait permettre à long terme de développer des applications thérapeutiques pour le traitement de certaines pathologies, cardiovasculaires et/ou neuromusculaires.

Session V : Toxicologie et Pharmacochimie

A5.63

EFFETS D'UN MÉLANGE DE DIOXINES SUR LA RÉPONSE IMMUNITAIRE CHEZ LE VER DE TERRE *EISENIA ANDREI*

H. Belmeskine¹, P. Brousseau¹, S. Haddad², L. Vandelac², M. Fournier¹

¹Institut national de la recherche scientifique, Institut Armand Frappier (INRS-IAF), Laval

²Université du Québec à Montréal (UQÀM)

Les dioxines regroupent les polychlorodibenzo-para-dioxines (PCDD) et les polychlorodibenzofuranes (PCDF). Ce sont des composés organiques aromatiques tricycliques chlorés produits accidentellement dans les procédés ayant une étape de combustion tels que; l'industrie sidérurgique et surtout l'incinération de déchets ménagers, hospitaliers et industriels. Une fois émis dans l'atmosphère via les cheminées, les dioxines connues pour être des polluants organiques persistants vont se retrouver dans tous les écosystèmes soient; l'air, l'eau et le sol pour atteindre la chaîne alimentaire. La présence de ces contaminants avec des taux élevés dans les sols par rapport aux valeurs limites peut avoir des effets directs sur la croissance, la survie et la fertilité des organismes y vivant. De nombreuses études écotoxicologiques des sols aux alentours des zones industrielles utilisent le ver de terre, en particulier *Eisenia fœtida* et *Eisenia andrei*, comme bioindicateur de la contamination. Ceci est lié à leur cycle de vie court, l'efficacité de reproduction et la facilité de leur culture et manipulation au laboratoire. L'objectif essentiel de notre étude consiste à évaluer les effets immunotoxicologiques des dioxines chez les vers de terre *Eisenia andrei*. Ceci est basé sur des tests in vitro et in vivo réalisés au laboratoire et visant la réalisation de courbes dose-réponse afin de déterminer la concentration létale de 50% de la population (CL50), une cinétique d'incubation, et l'étude des effets des dioxines sur la viabilité cellulaire, la capacité et l'efficacité phagocytaires. Les résultats des tests in vitro, après une préincubation des cœlomocytes de 3, 6 et 12 heures aux dioxines, révèlent une chute significative ($p < 0,001$) de la viabilité des cellules après 6 heures de préincubation. Il apparaît aussi une diminution de la capacité et l'efficacité phagocytaires entre 3 et 6 heures, mais ces tendances ne sont pas significatives. Pour le test in vivo, les vers ont été exposés pendant 1 heure aux dioxines (2, 3, 7, 8-TCDD) à des concentrations de 0.22, 1.10, 2.21, et 3.31 ng/cm² sur papier filtre dans des boîtes à pétrie. Les résultats obtenus annoncent une diminution significative de la cellularité ($p < 0,01$) chez les vers exposés à des concentrations de 2.21 et 3.31 ng/cm² de dioxines et une diminution significative ($p < 0,05$) de la viabilité cellulaire pour les vers exposés à 2.21 ng/cm². Mots clés : PCDD, PCDF, toxicité, *Eisenia andrei*, écotoxicologie

A5.64

INVERTIGATION OF THE MECHANISMS UNDERLYING ACROLEIN-INDUCED TOXICITY IN HUMAN NEURONAL CELL LILNE.

Dang Thanh Nam and Charles Ramassamy

INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Qc.

Acrolein (ACR), a highly toxic α,β -unsaturated aldehyde, is the strongest electrophile compound present commonly in environmental as a pollutant. It is also a metabolite of the anticancer drugs and a by-product of lipid peroxidation. ACR has been shown to be implicated in the pathogenesis of numerous diseases, especially in age related neurodegenerative disorders with higher levels in vulnerable regions of the brain in Alzheimer's disease. Being a highly reactive aldehyde, ACR toxicity is mediated by covalent bounding with nucleophilic molecules in the cells. The aim of our present study was to elucidate the mechanisms of ACR toxicity on SK-N-SH human neuroblastoma cells. We observed that ACR can induce cell death in a dose- and time-dependent manner. Indeed, after a short-term treatment (30min), ACR caused a rapid depletion of GSH, an increase in protein carbonyl levels, an upregulation of p66shc and an activation of the redox sensitive transcription factors (NF- κ B). In contrast, after a long-term treatment (24h), the cytotoxicity of ACR implicate different mechanisms with a reduction on protein carbonyl levels while GSH levels were increased with a parallel induction of the expression of the enzyme γ -glutamylcysteine synthetase (γ -GCS). Concomitantly, ACR also led to the up-regulation of heme oxygenase 1, sirt-1 and the activation of the Nrf2 pathway while decreasing the activity of NF- κ B as indicated by a decrease in the nuclear level of the subunit P50. Taken together, these data demonstrate that that the mechanisms underlying the ACR-induced toxicity are complex and may vary according to the time of the exposition. This work is supported by NSERC.

Partenaires financiers du Congrès Armand-Frappier 2009

FONDATION ARMAND-FRAPPIER

 Pour
l'avancement
de la
recherche
en **santé**

INRS

Université d'avant-garde

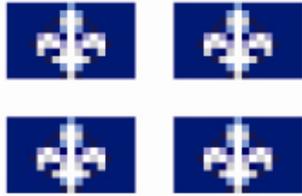
INRS–Institut Armand-Frappier

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

Québec



Finances
Québec

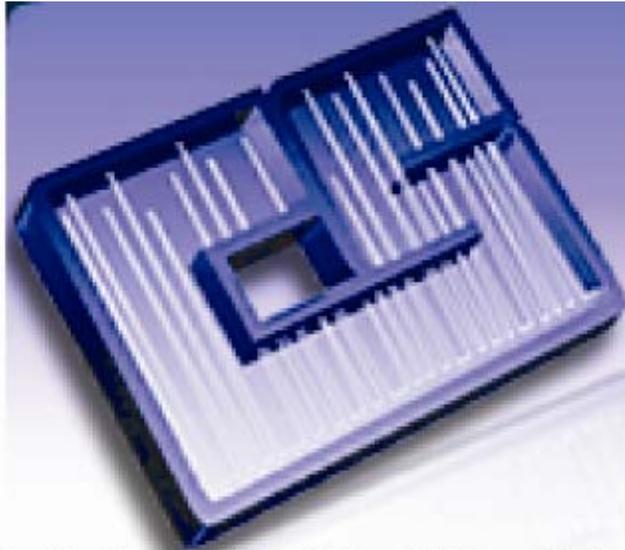




**Boehringer
Ingelheim**



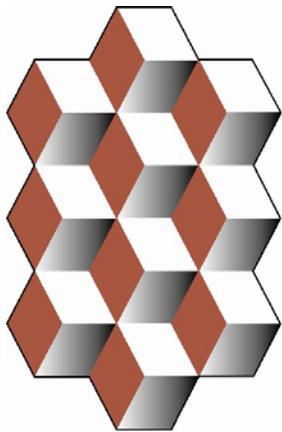
charles river



CHROMATOGRAPHIC SPECIALITIES



L'Association des Microbiologistes du Québec



COQIB

Centre québécois d'innovation
en biotechnologie



IRSC CIHR

Instituts de recherche
en santé du Canada

Canadian Institutes of
Health Research



AXCAN PHARMA

AstraZeneca 



GlaxoSmithKline

***Éducation,
Loisir et Sport***

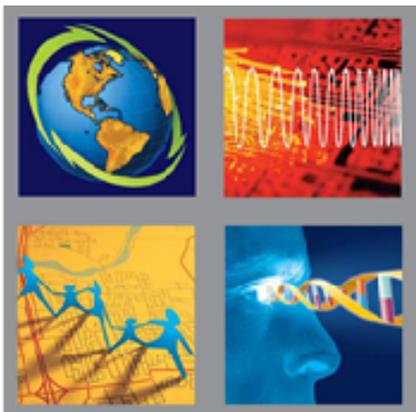
Québec





SIGMA-ALDRICH





FÉDÉRATION DES ÉTUDIANTS DE L'INRS



SOLUTIONSMEDIA.CA

IMPRESSION GRAND FORMAT - ENSEIGNE - PRÉSENTOIRE - IMPRIMERIE

514.928.1121 info@solutionsmedia.ca



**Centre
interinstitutionnel
de recherche
en écotoxicologie**



Index des auteurs

A

Aldelijelil, NB A3.24
 Allard, V A1.2, A1.3
 A1.6
 Àlvarez de Célis, H A1.1
 Amrani, A A4.47
 Anderson, D A3.40
 Archambault, D A1.5, A3.25
 O3.5, A1.7
 Arguin, M O5.1
 Aris, A A4.53
 Asselin, E A4.51
 Auclair, J A2.16

B

Barat, C A3.38
 Beudet, R A2.18
 Beaulieu, P O4.4
 Bédard, M O4.5
 Bélanger, B A1.2, A1.3
 Bélanger, SD A4.44
 Béliveau, R O4.1
 Belmeskine, H A5.63
 Benchalgo, N A5.57
 Benedetti, A O1.3
 Berger-Thibault, N O4.1
 Bergoin, M A3.29
 Berthod, F O4.4
 Berthoux, L A3.27, A3.28
 Bertin, J A3.38
 Bertrand, L A3.36
 Bésin, G O1.2
 Besson, I A1.3
 Biron-Pain, K A4.43, A4.44
 Boivert, M A3.34, O3.3
 Boily, M O5.4
 Boissonneault, G O5.1
 Bolduc, M A1.8
 Bouchard, F A4.44
 Bouchard, A A3.28
 Bouchard-Lévesque, V A3.23
 Bourgeois-Daigneault, M A4.54
 Bourget, A A3.24
 Brassard, F O3.1
 Brison, E A1.9
 Brousseau, N O2.2
 Brousseau, P A5.57, A5.58
 A5.63, O5.4
 Burt, DS A1.2

C

Castan, A A3.40
 Cejka, P A5.58
 Charbonneau, M O5.3

Charpentier, T A1.13
 Chatenet, D A5.59, A5.61
 A5.62, A4.45
 O4.4
 Crabé, S A4.46, A4.52
 Cormier, K O3.4
 Cotton, S

D

Daniel, C O1.4, A1.2
 A1.3, A1.6
 Daugan, M A1.4
 Del Castillo, J A3.26
 Descoteaux, A A1.10, O1.1
 Desforges, M O1.5, A1.9
 A3.33
 A3.33
 Desjardins, J O2.2
 Dewailly, E A2.19, A2.21
 Déziel, E O2.3, O2.4
 A2.18
 A5.58
 Djouder, H A5.59
 Doan Ngoc, D A1.8
 Drouin, K O2.3
 Dumais, J A1.8
 Dumas, M-C O1.2, A1.1
 Duplay, P A2.17
 Dupont, C O3.1
 Dupont, K O5.4
 Dussault, S

E

Elson, G O4.4
 El-Zein, M O1.3, A4.50
 Ennaciri, J A1.12

F

Faye Mame, D O4.3
 Fernandes, S O3.3, A3.34
 Fittpaldi, N O2.1
 Fournier, A A5.59, A5.61
 A5.62, A4.45
 Fournier, S A4.46, A4.52
 Fournier, M A5.57, A5.58
 A5.63, O5.4
 Fortier, M A5.57, A5.58
 O5.4
 Fraser, M O5.5, A5.60

G

Gabriel, C O1.1
 Gaboury, L A4.49
 Gagné, F A5.57
 Gagné, N A1.11
 Gagnon, C A3.37

Gagnon, CA	A3.26, A1.7	Leclerc, D	A1.8
Galbas, T	A4.47	Leclerc, P	A4.51
Gasmi, J	A4.48	Lecours, M-P	O2.1
Gauchat, J-F	O4.4	Leduc, C	O1.4
Gehring, K	A3.23	Leduc, F	O5.1
Girard, A	A1.5	Leduc, K	A4.51
Girard, D	A1.12, O1.1	Leiva-Torres, GA	A3.36, A3.35
Giroux-Quesnel, F	A2.22	Lemire, P	O2.1
Gingras, D	O4.1	Lépine, F	A2.19, A2.18
Gingras, M	O4.4	Lessard, M	A1.7
Gomez Corredor, AL	O3.5, A3.25	Letellier, M-C	O4.4
Goncalves, C	A1.14	Létourneau, M	A5.59, A5.61
Grangeon, R	O3.4		A5.62, A4.45
Grégoire, M-C	O5.1	Lévesque, B	O2.2
Groleau, M-C	O2.3	Locas, A	O2.5
Grosset, A-A	A4.49	Lymberopoulos, MH	A3.24
Guérin, A	A1.8		
Guertin, C	A2.20, A2.15		
	A2.22		
Guo, G	A2.20		
		M	
H		Majeau, N	A1.8
Haddad, S	A5.63	Massie, B	A1.5, A1.7
Harquail, J	A4.46	Masson, L	O2.5
Hyjazie, H	A3.41, A3.36	Matte, C	A1.10
		McMaster, RW	O1.1
I		Ménard, J	A2.21
Imbeau, M	O2.5	Meunier, I	O3.2, A1.13
		Music, N	A3.26
J			
J Favreau, D	O1.5	N	
Jacomy, H	A1.9	Nepveu-Traversy, M-E	A3.27
Jacques, M	A3.26	Nguyen, Nhung T-T	A5.61
Janelle, V	O3.1	Nguyen, T-T M	A4.45
Jia, JJ	A3.26		
Jousset, F.X.	A3.29	O	
Juteau, P	A2.21, A2.18	O'Brien, P	A4.52
		O'Brien, J	A4.46, A4.52
K		Ouellet, J	A2.18
Kâ, K	A4.50	Ouellet, M	A3.32
		Ouellette, R	O4.3, A4.52
L			
Lacoste-Caron, G	A2.18	P	
Lacroix, M	A2.17	Parent, M-E	A4.50, O1.3
Lafond, J	A4.51		O5.2
LaFlamme, M	A4.52, A1.11	Parent, S	A2.16
Laliberté, J-F	O3.4	Paris, K	A4.53
Laliberté-Gagné, M-E	A1.8	Payment, P	O2.5
Lamarche, M	A2.19	Pearson, A	A3.24, A3.36
Lamarre, A	A1.4, O3.1		A3.41, A3.35
Lanoix, D	O4.2	Plante, M	A1.2
Lebel, M-A	A3.26	Pham, QT	A3.28
Lebrun, R	A5.58	Pham TH	A3.29
		Poliquin, L	O3.1

R

Raoult, G O2.4
 Reyes-Moreno, C A4.51
 Richard, R A4.52
 Robichaud, R O4.5
 Robichaud, GA A4.46, A4.52
 A1.11
 Robichaud-Haché, M A1.11
 Roby, A A1.6
 Rochette, PA A3.35
 Rousseau, M-C A4.50, O1.3
 O5.2
 Rouxel, R A3.39
 Roques, E A1.7
 Roy, A O3.1
 Roy, M A1.11

S

Saba, I O1.2
 Salenius, K A1.11
 Sanderson, T A4.48
 Santos, S A2.18
 Saron, W A1.7
 Sato, S A3.32
 Savard, C A1.8
 Sawatsky, B A3.30
 Scarino, A O5.3
 Segura, M O2.1
 Shike, H A3.29
 Siemiatycki, J A4.50, O5.2
 Simard, N. C A1.11
 Somo Youmbi, E A3.37
 St-Louis, M-C A1.5, A1.7
 St-Pierre, Y A4.43, A4.44
 A4.49, A4.50
 Srei, N A2.15
 Steimle, V A4.47
 Surette, C A5.60, O5.5
 Svitek, N A1.14, A3.39
 Szelei, J O3.3, A3.29

T

Talbot, PJ A1.9, O1.5
 A3.33
 Tardif, R O5.3
 Tessier, P A4.46
 Thibodeau, AJ A4.54
 Thibodeau, J A4.47
 Tijssen, P A3.23, A3.34
 O3.3, A3.29
 Tremblay, J A2.19
 Tremblay, M.J A3.32, A3.38
 Turcotte, K A4.45
 Turgis, M A2.17

V

Vaillancourt, C A5.60, O4.2
 O5.5
 Vandelac, L A5.63
 Vial, L A2.19
 Villemur, R O2.5, A2.16
 A2.18
 von Messling, V A1.14, A3.40
 O3.2, A3.39
 A3.37, A3.30
 O2.5
 Vuong, NM

W

Walczak, J-S O4.4
 Wynant, W O5.2
 Wong, X-X A3.30