

1. INTRODUCTION

L'importance d'étudier les protéines (humaines, virales, bactériennes, etc.).

- Comprendre leur implication dans certaines maladies;
- Développer des médicaments (en étant la cible ou la solution);
- Développer des nouveaux bioprocédés (ex. biodétergents).

Pourquoi produire les protéines (ex. humaines) dans des microorganismes recombinants ?

- Faible quantité extraite de cellules humaines en pétri;
- Faible coût comparé à la culture de cellules humaines en pétri (sérum et hormones = \$\$\$);
- Simplification de la mise à l'échelle....(700L de neurones... impossible!).

Par contre les problèmes rencontrés:

- Peu exprimé et toxicité pour l'hôte;
- Mauvais repliement;
- Réduction de la solubilité...besoin de leur environnement naturel (ex. protéine oculaire dans une bactérie...loin de son environnement naturel!).

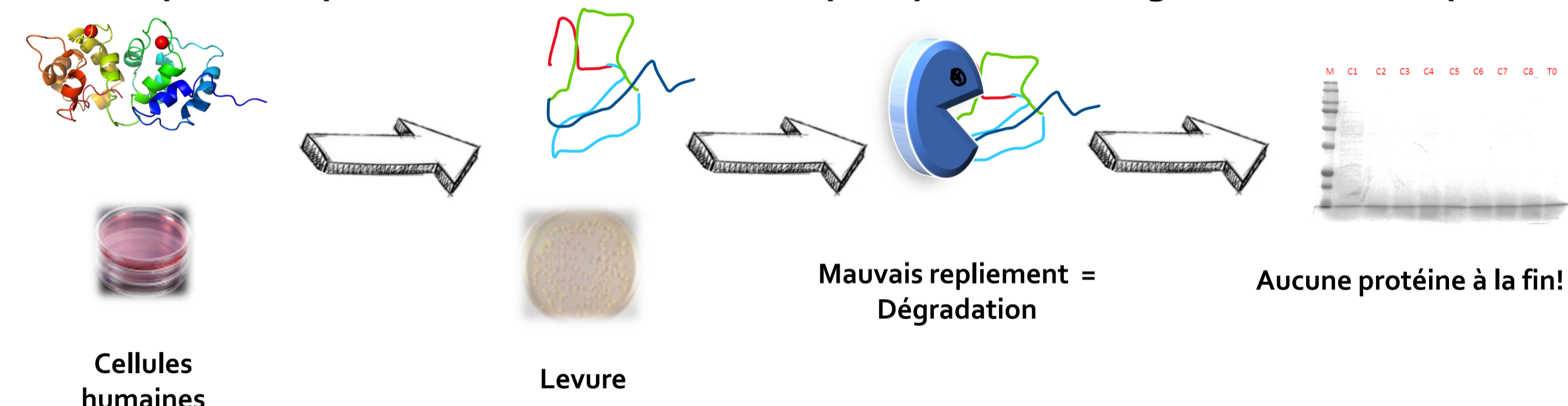
20-30% du génome humain code pour des protéines membranaires...représente 1% des protéines dont les structures sont connues. (trop insoluble pour étudier in vitro).

L'enjeu pour contourner ce problème d'insolubilité?

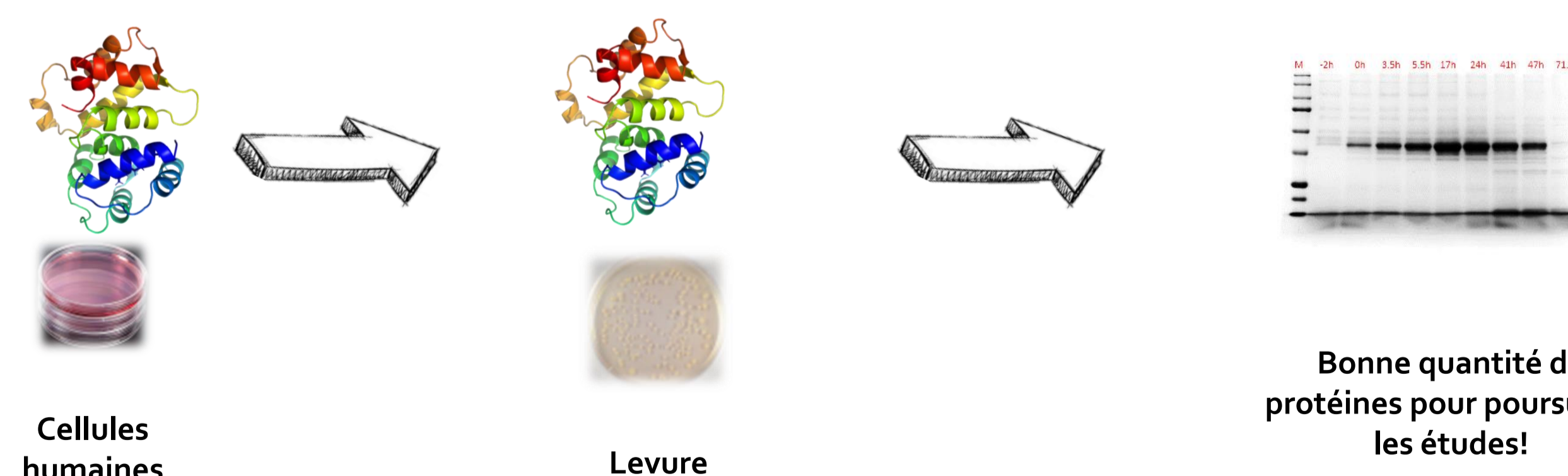
Développer des outils de biologie moléculaire pour optimiser la solubilité des protéines.

2. CONCEPT

1. Une protéine peu soluble aura tendance à précipiter voire dégrader lors de sa production



2. Une protéine humaine (TagR) hautement soluble est facilement produite et purifiée dans différents microorganismes

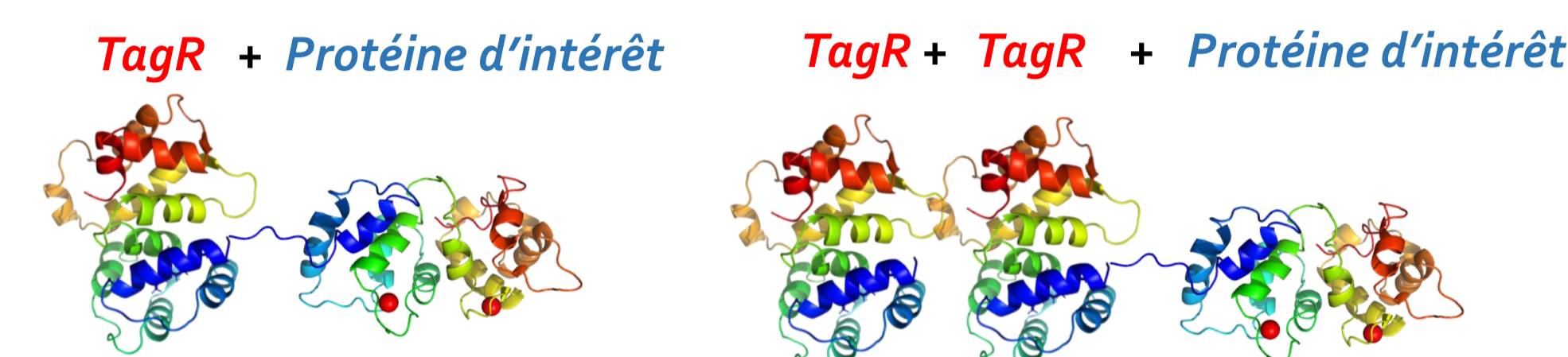


Est-ce que la protéine soluble (TagR) peut influencer positivement les protéines peu solubles chez la levure ?

Des résultats préliminaires dans *Escherichia coli* indiquent le potentiel de TagR. Dans *Pichia pastoris*, aucun résultat disponible.

3. MÉTHODOLOGIE

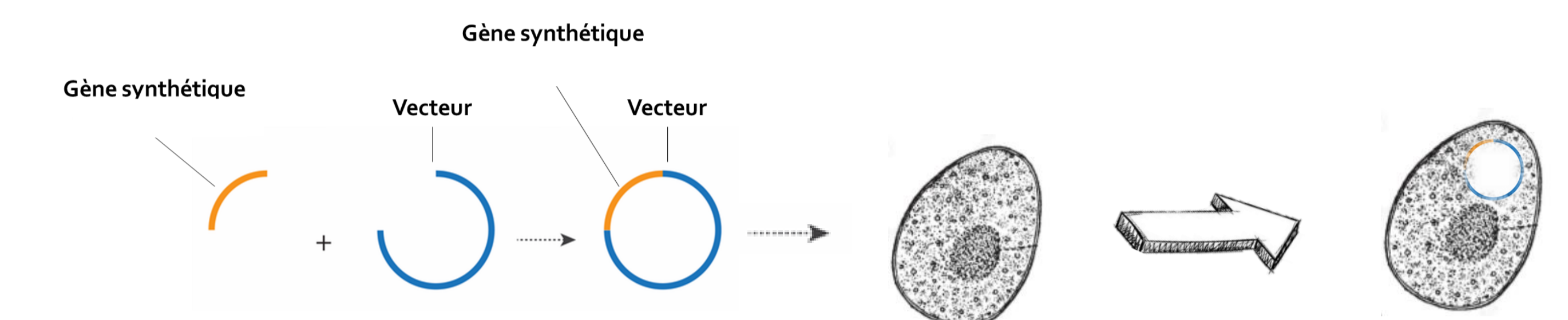
1. Création d'un système permettant le couplage de 1-2 protéines solubles aux protéines d'intérêts peu solubles.



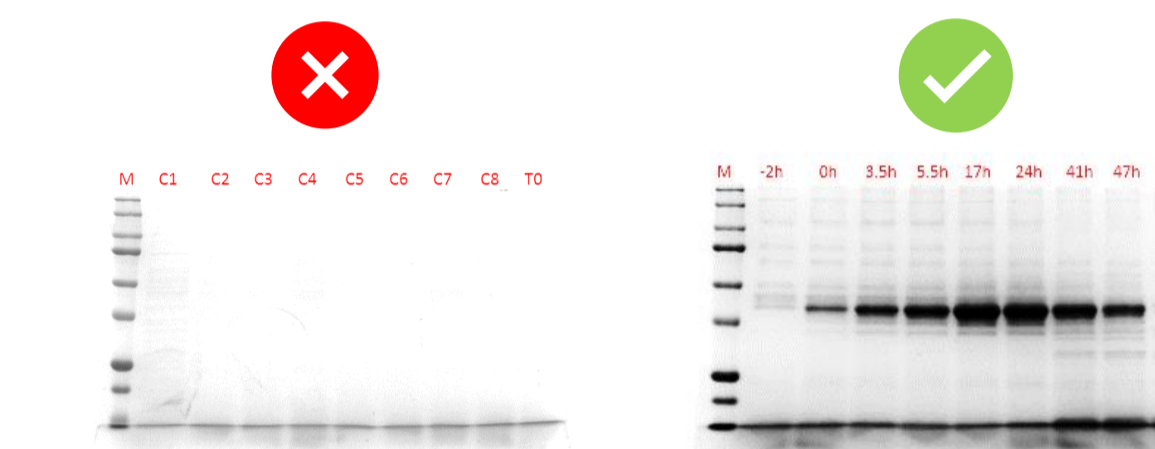
3. Production en bioréacteur.



2. Insertion dans la levure *Pichia pastoris*.



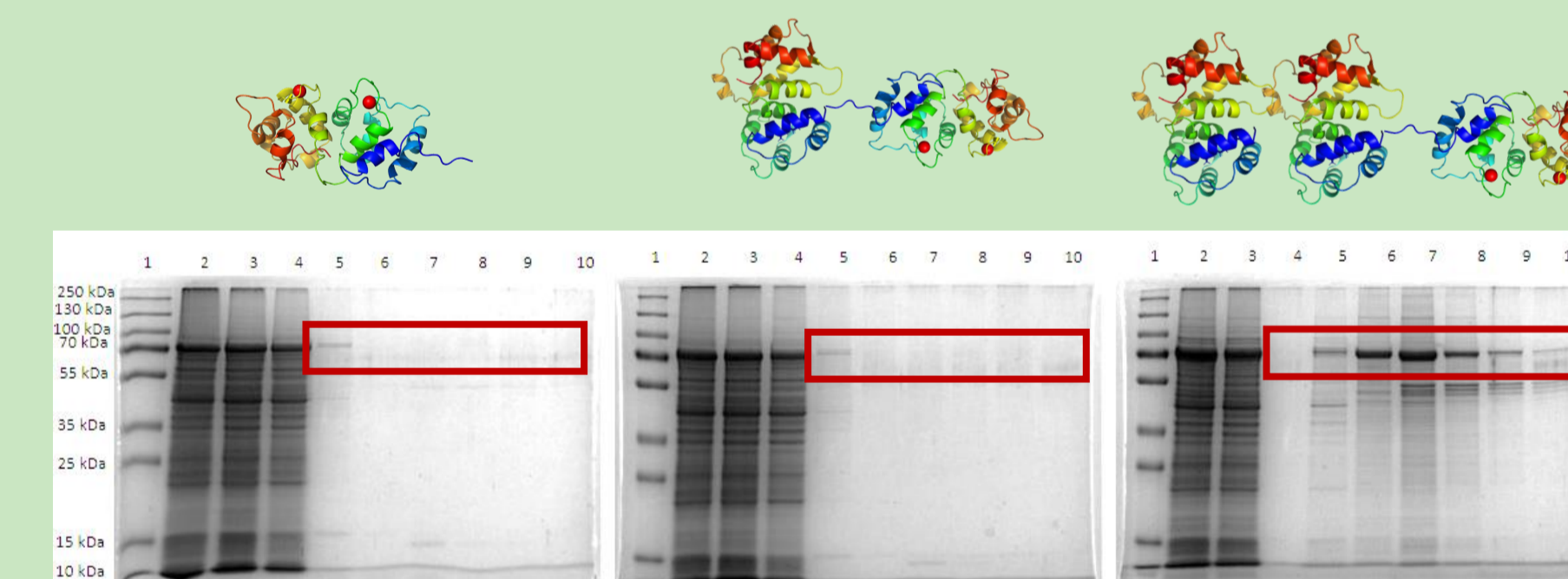
4. Visualisation sur gel des protéines.



4. RÉSULTATS

Production d'une protéine humaine impliquée dans certaines maladies oculaires

Cette protéine nécessite de fortes concentrations de détergents (SDS) pour l'obtenir sous forme soluble dans une bactérie recombinante. Cependant, le SDS détruit l'activité enzymatique de la protéine.

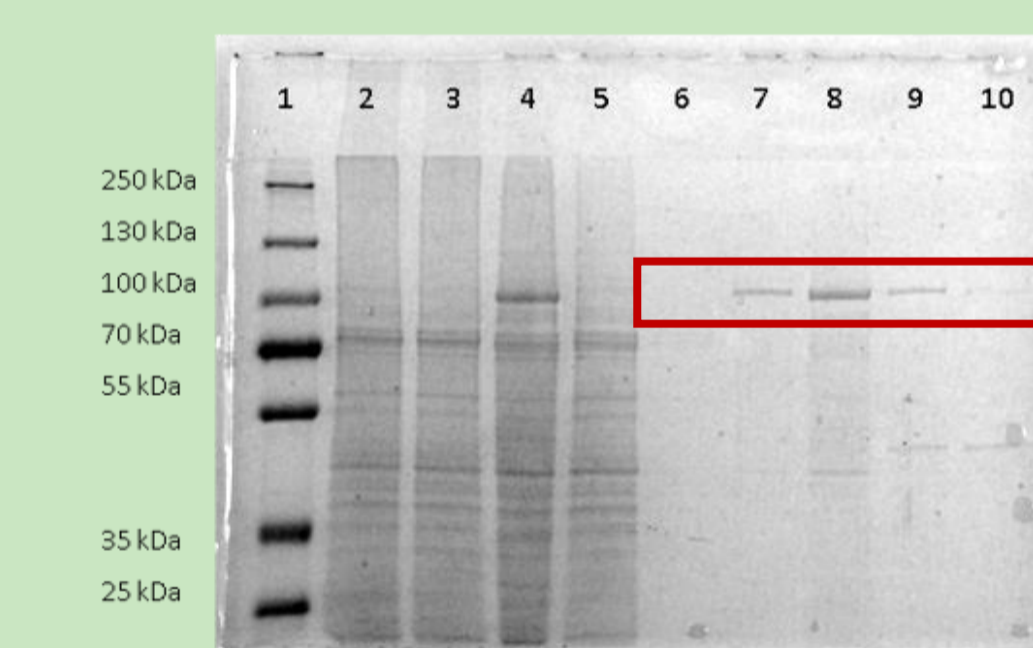


Résultats

La protéine est présente sous forme soluble seulement quand deux TagR sont fusionnée en N-Terminal.

Production d'une protéine humaine atténuant les symptômes de la maladie de Crohn.

Cette protéine est peu soluble et nécessite de fortes concentrations de détergents pour l'obtenir sous forme soluble dans une bactérie recombinante.



Résultats

La protéine est produite en petite quantité avec deux TagR fusionnées à cette protéine et sa purification est possible.

5. CONCLUSION

La fusion de deux protéines solubles à une protéine insoluble donne des résultats intéressants:

- Permet la production de protéines humaines habituellement impossibles à exprimer dans la levure;
- Facilite la purification de ces protéines.

Excellent potentiel pour produire des protéines autrefois impossibles à produire dans les microorganismes.

Prochaines étapes:

- Poursuivre les essais avec les deux protéines présentées (essais enzymatiques).
- Essais avec d'autres protéines.

6. REMERCIEMENTS

Nous remercions l'ensemble des membres du CNETE et de l'Université Laval provenant du laboratoire du Pr Christian Salesse pour leur grande contribution aux travaux expérimentaux.

Nous remercions les organismes subventionnaires suivants pour leur soutien: le Ministère de l'Enseignement Supérieur (MES), le Ministère de l'Économie et de l'Innovation (MEI), le Fonds de recherche du Québec – Nature et Technologies (FRONT) et le Conseil de recherche en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG).