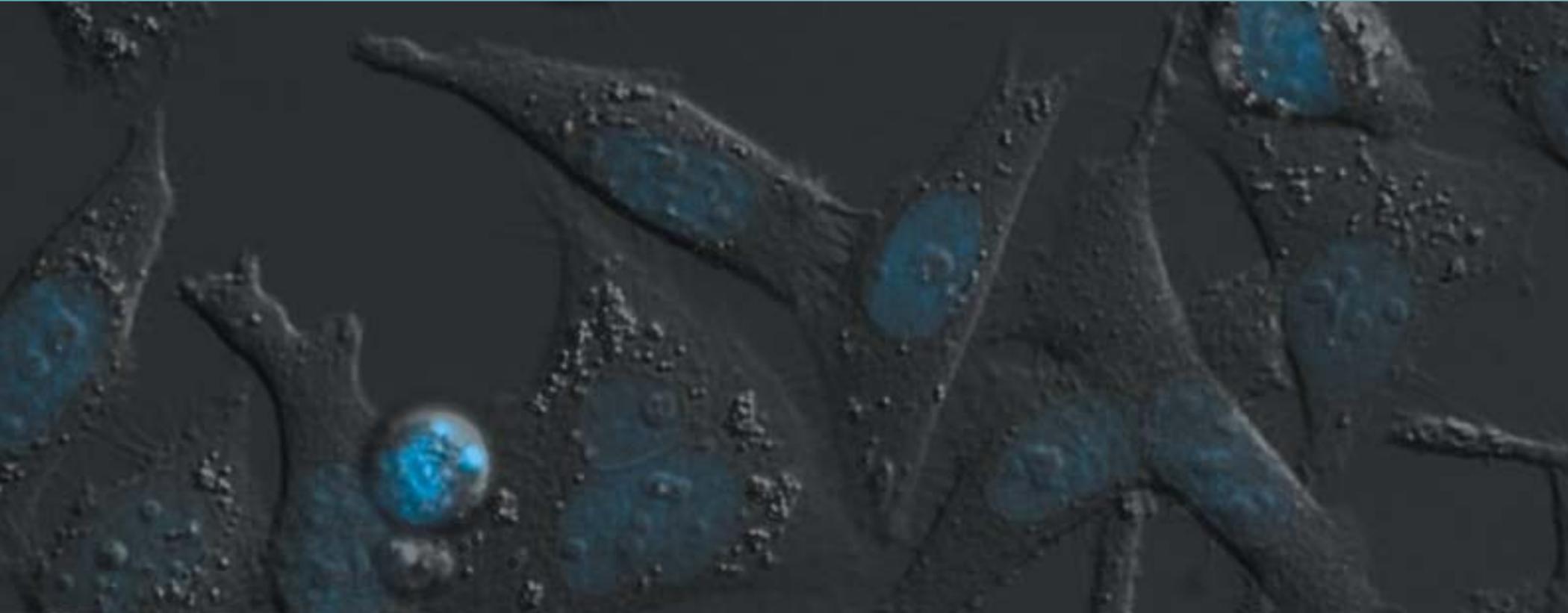




*Institut de recherche
en biotechnologie*
CNRC · NRC



RAPPORT ANNUEL 2001-2002



Conseil national
de recherches Canada

National Research
Council Canada

Canada

TABLE DES MATIÈRES 2001-2002



1 Rapport du directeur général



2 L'Industrie de la biotechnologie 2000-2001



4 IRB – Le passage à l'ère post-géonomique



b Points saillants



8 Secteur Santé



1b Plateforme Bioprocédés



20 Secteur Environnement



26 Publications 2001



32 Alliances industrielles et partenariats



3b Les artisans du succès



38 Entreprises localisées à l'IRB



40 Personnel clé de l'IRB 2002

37 États financiers

39 Marketing et Communications

Couverture

Cellules Hela surexprimant une forme tronquée de hsp70 « heat shock protéine »
Noyaux (en bleu), coloration avec Hoechst

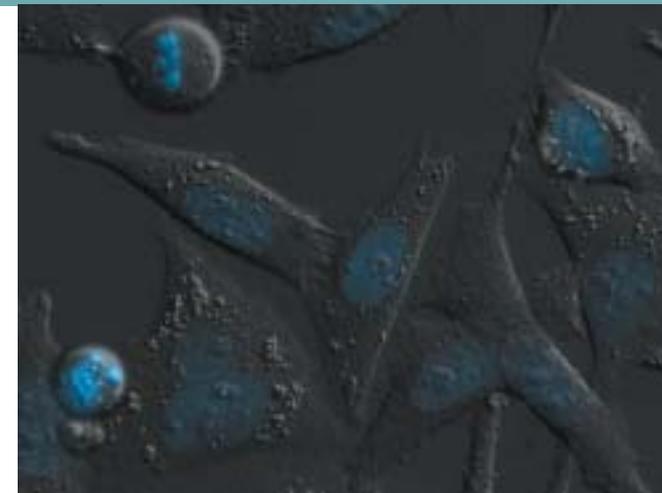


Photo: **Antoine Caron**



RAPPORT DU DIRECTEUR GÉNÉRAL 2001-2002

EN 2001-2002, LES RÉALISATIONS SCIENTIFIQUES DE L'IRB INCLUENT une nouvelle classe d'inhibiteurs mis au point pour le traitement du cancer du sein et contre la cathepsine L dont le rôle dans certains cancers a été prouvé. Nos chercheurs ont aussi amélioré la puissance des vecteurs d'expression chez *M. extorquens* à des fins de production commerciale et développé un nouveau système mammifère inductible pour l'expression génétique dirigée et un système mammifère pour le criblage de médicaments. Les chercheurs ont aussi terminé l'étude du fondement génétique de la dégradation des hydrocarbures par divers *Rhodococcus spp* et proposé des lignes directrices en matière de qualité des sols contaminés par le TNT. On a en outre élucidé les étapes enzymatiques de la dégradation des explosifs.

Les résultats de l'Institut ont été remarquables à de nombreux égards. Les revenus globaux de l'IRB ont atteint un niveau record de près de sept mil-

lions de dollars. Cette année, nous avons signé 40 ententes de collaboration, soit le double de 2000-2001. Nous avons aussi reçu un financement considérable dans le cadre de l'IGS, initiative portant sur le cancer, les maladies infectieuses, la biologie structurale et l'environnement. VRQ (Québec) a alloué 120 mille dollars aux activités liées au traitement du cancer et les IRSC ont accordé 500 mille dollars pour le financement de nos travaux en thérapie génique.

En 2001-2002, l'IRB a participé à de nombreuses initiatives d'importance pouvant influencer considérablement le développement des biotechnologie aux niveaux régional et national. Ces initiatives pourraient aussi changer le rôle futur de l'IRB au sein de la communauté montréalaise. La première de ces initiatives est liée à la participation de l'IRB à la constitution d'un solide dossier visant à attirer un investissement majeur de DSM Biologics, en collaboration avec ses

partenaires provinciaux, fédéraux et municipaux. Au cours de l'année, l'IRB a consacré des efforts considérables en vue de cet investissement, telle la construction d'une nouvelle aile industrielle permettant d'accueillir plus de collaborateurs industriels.

La deuxième initiative d'importance est la participation de l'IRB à l'élaboration de stratégies en vue d'accélérer le développement du secteur montréalais des sciences de la vie. La stratégie, développée en collaboration avec les principaux intervenants universitaires, gouvernementaux et industriels, a été publiée à la fin d'avril 2002. L'IRB est appelé à jouer un rôle clé dans cette stratégie dont la mise en œuvre exigera d'importants investissements en termes financiers et humains.

La troisième initiative est liée à l'approbation du nouveau plan stratégique 2002-2007 de l'IRB par le conseil du CNRC. L'approbation a entraîné la restructuration immédiate de l'Institut. Lors de la création de la plateforme des

Bioprocédés, un groupe de recherche de l'ancien secteur Santé est passé à la nouvelle plateforme des Bioprocédés. Un nouveau poste de directeur de la propriété intellectuelle a été créé.

Les chercheurs ont participé à de nombreuses conférences nationales et internationales, et le symposium de réputation internationale organisé par l'IRB, « Le carrefour de la biotechnologie », a connu un succès aussi vif que l'an dernier.

L'année qui se termine a été cruciale pour l'IRB en termes de positionnement national et international. Les nouvelles activités lancées au cours de cette période pourraient se traduire par des résultats spectaculaires en 2002-2003.

Dr Michel J. Desrochers
Directeur général

L'INDUSTRIE DE LA BIOTECHNOLOGIE 2001



L'année 2001 a été la deuxième année la plus prospère de l'histoire de l'industrie biotechnologique, malgré les problèmes économiques, la récession, la volatilité des marchés et le choc causé par l'attaque du 11 septembre à New-York. Même en chutant de 13 % par rapport à l'an 2000, l'industrie a dépassé les moyennes industrielles du Dow-Jones et du NASDAQ.

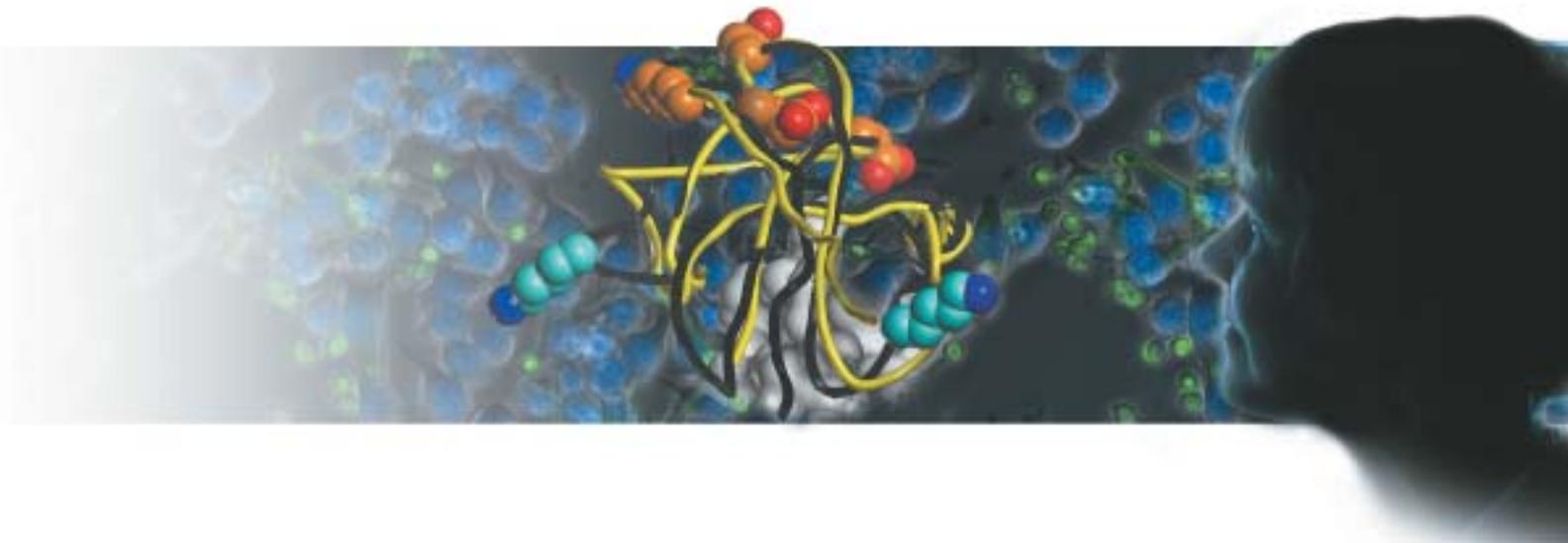
La confiance témoignée par le marché boursier démontre la force intrinsèque de cette industrie. La biotechnologie n'est plus simplement le moteur de la R&D de l'industrie pharmaceutique : elle a non seulement sa propre identité mais elle est également indépendante dans ses orientations et ses stratégies commerciales.

Cette année, nous avons assisté à des progrès remarquables en recherche, notamment la publication, en février, de la séquence complète du génome humain par le projet « Human Genome » et « Celera Genomics ». L'annonce du nombre – modeste – de 30 000 gènes codant les protéines a d'abord surpris, puis a été revu à la hausse pour atteindre les valeurs originellement prévues de 65 000 à 90 000 gènes. Au cours des dix ans qu'a duré la recherche, on a séquencé le génome de nombreux autres êtres vivants : souris, drosophile, *Arabidopsis thaliana* (plante), *C. elegans* (ver), levure et bactéries diverses. Les technologies ont évolué au cours de cette intense activité de séquençage pour compter maintenant la protéomique, la génomique fonctionnelle,

la bioinformatique, les biopuces et la pharmacogénomique. En 2001, on a aussi créé la biologie des systèmes, qui intègre toutes ces disciplines en vue de mieux comprendre les composants cellulaires et leur fonction dans les systèmes biologiques plus complexes.

Tout en étant planétaire, l'industrie de la biotechnologie, qui compte 5 000 sociétés, est surtout concentrée aux États-Unis (2 000 à 2 500), en Europe (1 600) et au Canada (340). Les américains dépensent beaucoup plus en R&D que tous les autres pays réunis (39 milliards \$), l'Europe et le Canada étant loin derrière (respectivement 2,5 milliards et 680 millions \$). Les revenus annuels des industries américaine, européenne et canadienne sont sensiblement proportionnels aux dépenses

- 2002



en R&D (39 milliards, 3,9 milliards et 1,5 milliards \$), tout comme les capitalisations boursières composées (382 milliards, 68 milliards et 24 milliards \$). En 2001, les opérations de financement ont connu de moins grands écarts, l'industrie américaine attirant 12 milliards \$, l'ensemble de l'Europe 2,3 milliards \$ et le Canada, 2,09 milliards \$.

Au Canada, malgré les soubresauts économiques, la R&D en biotechnologie a augmenté de 36 % par rapport à l'année précédente, surtout grâce aux sociétés développant des produits thérapeutiques et diagnostiques. BioChem Pharma, vaisseau amiral de la biotechnologie industrielle canadienne, a été acquise par Shire Pharmaceuticals pour une somme record de 5,8 milliards \$ et Biovail a

réuni près d'un milliard de dollars dans une deuxième ronde de financement (la moitié de tout le financement canadien en 2001). Plus du tiers (133) des 340 sociétés biotechnologiques canadiennes sont situées au Québec, l'Ontario étant en seconde position (119) et la Colombie-Britannique, en troisième (81). Québec a aussi reçu la part la plus importante du capital de risque (242 millions \$), la Colombie-Britannique se positionnant en seconde place (205 millions \$) et l'Ontario, en troisième avec 128 millions \$.

Une fois de plus, le gouvernement a joué un rôle central auprès de l'industrie canadienne en apportant son soutien financier à la R&D en biotechnologie. Les programmes fédéraux de soutien comprennent :

Génome Canada (recherche), la Fondation canadienne pour l'innovation (recherche et infrastructures), les Réseaux de centres d'excellence (recherche), les cinq instituts de biotechnologie du Conseil national de recherches du Canada (recherche et développement), Partenariat technologique Canada (investissement), les Instituts de recherche en santé du Canada (recherche) et le Conseil national de recherches en sciences naturelles et en génie (recherche et formation).

LE PASSAGE À L'ÈRE POST-GÉNOMIQUE



L'INSTITUT DE RECHERCHE EN BIOTECHNOLOGIE (IRB) est au cœur de la grappe de recherche en biotechnologie des entreprises de la grande région de Montréal. L'IRB, composante du Conseil national de recherche du Canada, est le centre de R&D en biotechnologie le plus important à l'échelle nationale, ses effectifs s'élevant à plus de 800 personnes, en comptant le personnel du CNRC, les chercheurs invités, les étudiants, les chercheurs post-doctoraux et les chercheurs des compagnies localisées à l'IRB. Les installations de l'IRB couvrent 25 800 m², dont 8 222 m² comprenant des laboratoires, des bureaux et une usine pilote environnementale dédiés à ses partenaires industriels qui reçoivent ainsi un appui encore plus concret.

Une fois de plus en 2001, les trois secteurs de R&D de l'IRB ont réalisé des progrès remarquables dans le cadre de leurs programmes, en utilisant les équipements les plus récents, conçus pour faire résolument passer la recherche à l'ère post-génomique. L'année a été exceptionnelle en termes de brevets pour les procédés développés à l'IRB, et la puissance diagnostique intrinsèque

de la technologie des biopuces, ce qui a ouvert la voie à de précieuses applications en recherche environnementale et au développement de médicaments. Les liens externes de l'IRB avec l'ensemble de la communauté biotechnologique, toujours plus étendus, ont pris la forme de communications professionnelles et d'ententes nombreuses avec les universités et l'industrie, ainsi que de plusieurs conférences, notamment le symposium annuel parrainé par l'IRB, « Le Carrefour de la biotechnologie 2001 », qui allie sciences et affaires, et a vu converger plus de 1 000 participants d'Amérique du Nord, d'Europe et d'Asie.

Le Secteur Environnement répond aux besoins de l'industrie canadienne, en s'attaquant aux problématiques telles que la qualité de l'air et de l'eau potable, la décontamination des sols et des déchets. La recherche s'est concentrée sur la lutte et la prévention de la pollution, les technologies de biomonitorage et les procédés de bioconversion en vue du développement durable.

Les chercheurs ont réalisé des progrès considérables dans le domaine des biopuces pour l'identification rapide

de souches pathogènes d'*E. coli* et le dépistage, en parallèle, de centaines de microbes différents dans une seule goutte d'eau. Les biopuces ont aussi fait partie d'une méthodologie, dite « métagénomique », pour la quantification et la caractérisation des populations microbiennes dans les sites contaminés et le monitoring de leur évolution pendant la restauration. Les techniques de nanofabrication ont permis de créer des biocapteurs minuscules utilisant des cellules vivantes pour monitorer les contaminants environnementaux, les pathogènes alimentaires et même, l'efficacité des médicaments prototypes. Le travail sur les contaminants explosifs, soutenu par l'US-Army, se poursuit et est même prolongé de trois ans, afin de mobiliser des microbes pour la dégradation des composés TNT, HMX, RDX et, plus récemment CL-20, qui contaminent les sols et les eaux souterraines des sites militaires. Les écotoxicologues ont poursuivi leurs travaux sur les seuils de dépistage de la toxicité, publiant un ouvrage synthèse consacré à ce domaine qui est destiné aux agences gouvernementales

de réglementation, aux experts conseils et aux étudiants de troisième cycle. La modélisation mathématique a permis de mettre au point un procédé d'extraction des nitrates dangereux présents dans les eaux souterraines des aéroports. Les experts en technologie génomique et voies cataboliques ont fait des progrès en biodégradation « contrôlée » et dans les nouvelles méthodes de création de valeur par l'utilisation de micro-organismes transformant les déchets et autres matières organiques en produits utiles. Ces procédés sont la voie de l'avenir, car ils sont moins coûteux et ils sont la source de produits nouveaux, conformes au développement durable.

Le Secteur Santé accorde la priorité à la recherche sur le cancer et les maladies infectieuses, deux domaines où il excelle par sa technologie et son expérience. Le Secteur a en outre innové avec un nouveau programme de recherche en protéomique structurale, l'une des nouvelles disciplines les plus importantes et la clé pour l'élucidation des interactions protéiques formant les complexes propres aux systèmes vi-



vants. Ces résultats sont le fruit des efforts des informaticiens modélisateurs et des spécialistes des récepteurs cellulaires, qui ont jeté un éclairage nouveau sur le mode d'interaction des ligands avec le récepteur du facteur de croissance transformant bêta (TGF- β), des données précieuses en vue de la synthèse d'inhibiteurs pour le traitement des maladies fibreuses telles la cirrhose du foie, la maladie pulmonaire idiopathique et la glomérulonéphrite. La recherche sur les enzymes de *C. albicans* a permis d'élucider les mécanismes de signalisation poussant la levure à se transformer en un agent pathogène. D'autres travaux, reposant sur l'utilisation des biopuces, donnent à penser que l'on pourrait trouver des traitements alternatifs à l'antifongique fluconazole. Dans le cadre d'une autre recherche, les programmeurs informaticiens ont mis au point un logiciel permettant d'établir la complémentarité de charge optimale lorsque deux protéines interagissent pour former un complexe. Enfin, le programme de génomique structurale, visant à accélérer la détermination des structures

protéiques par l'automatisation et le traitement en parallèle, termine une deuxième année en ayant réalisé des progrès substantiels.

L'année 2001 a été pour le Secteur Santé une année riche en termes de demandes de brevets : une technique utilisant les cellules humaines pour la détection des molécules rompant les interactions protéiques, l'utilisation de la levure *S. cerevisiae* comme vecteur pour l'évaluation de l'effet de médicaments potentiels sur les gènes et les protéines mammifères liés aux maladies, une méthode de mesure par RMN des forces de fixation entre ligands et récepteurs et autres molécules complexes, une technique rapide, rentable de production de peptides recombinants et une méthode novatrice de conception et de production de composés pharmacologiques reposant sur de nouvelles combinaisons de pharmacophores connus.

Le Secteur des bioprocédés (aujourd'hui Plateforme Bioprocédés) se positionne comme centre d'excellence en bioprocédés pour la production et la purification de matériel recombinant

obtenu par fermentation microbienne et par culture de cellules de mammifères et d'insectes ainsi que de leurs produits. Cette année, la recherche a permis la mise au point de systèmes rapides, peu coûteux de production de protéines à haut rendement. Le système, à base de cellules mammifères, fournit des protéines correctement repliées et modifiées en post-translation. Un système bactérien (*M. extorquens*) a été perfectionné afin d'en faire à l'interne un mode puissant de production de protéines. On a utilisé la levure *P. pastoris* pour le clonage d'un gène de bactériocine (en collaboration avec l'Université Laval). Ces petits antibiotiques protéiques possèdent des propriétés antibactériennes et pourraient servir d'agents naturels de conservation des aliments. Un autre travail a porté sur l'utilisation de levures spéciales afin de produire le HEMF, un composé aromatique naturel que l'on retrouve dans la sauce soja et qui possède des propriétés anti-tumorales potentielles, ainsi que sur un système robuste, sûr, pouvant être mis à l'échelle pour la production d'adénovirus purifiés, destinés aux

études précliniques de médicaments.

Une fois de plus en 2001, l'expertise des chercheurs et des ingénieurs de l'IRB, ainsi que l'excellence des programmes de recherche de l'Institut, se sont traduites par le rayonnement enviable de son personnel et de ses publications. Plus de 37 chercheurs sont professeurs adjoints dans des universités, ce qui permet d'attirer plus de 3,2 millions \$ en subventions évaluées par des pairs. Les chercheurs ont signé plus de 100 articles scientifiques publiés dans des revues prestigieuses et 43 rapports techniques. Les chercheurs et ingénieurs de l'IRB ont été invités à présenter leurs résultats à 80 conférences nationales et internationales.

L'IRB a signé 40 ententes de collaboration avec les partenaires de la région, en recherche environnementale et en santé, pour une valeur totale de 13 034 831 \$. Sur ce montant, l'appui financier ou technique des partenaires a été de 10 673 126 \$.

POINTS SAILLANTS

Réalisations scientifiques, industrielles de l'IRB



Les scientifiques et ingénieurs ont déposé...

- Une demande de brevet provisoire pour une méthode de mesure par RMN de la force de fixation entre les ligands et leurs molécules cibles. **Une aide précieuse dans l'évaluation de l'efficacité de cibles thérapeutiques.**
- Un brevet pour un vecteur d'expression et un procédé en vue de la production rapide, peu coûteuse et à rendement élevé de protéines, correctement transformées, repliées et modifiées en post-traduction. Cette méthodologie robuste utilise principalement les cellules eucaryotes, surtout les cellules de mammifères comme HEK-293 (rein embryonnaire humain). Elle répond aux besoins de la protéomique et des analyses structure-fonction – **possibilité de l'adapter à la production à haut rendement (HTP) à cause de l'expression rapide de protéines à partir de l'ADNc.**
- Un rapport d'invention sur une méthode efficace et rentable de production de peptides recombinants utilisant de nouvelles protéines de fusion. La méthodologie contourne les problèmes de dégradation par les protéases cellulaires en utilisant des corps d'inclusion protecteurs. **Un progrès par rapport aux méthodes chimiques de synthèse des peptides.**
- Une demande de brevet provisoire pour le développement d'un peptide mimétique sélectif nouveau, inhibant les cathepsines (surtout la cathepsine L), enzymes impliquées dans le passage des cellules de

l'état normal à l'état pathologique. **L'inhibiteur, non covalent et réversible, pourrait devenir un médicament prototype.**

- Un brevet pour un vecteur génétique adénoviral sûr, auto-régulé et d'expression élevée, destiné aux vaccins et à l'administration de gènes toxiques dans le traitement de maladies telles que le cancer – par exemple le **traitement des glioblastomes, cancer du cerveau généralement mortel.**
- Un brevet pour une technique utilisant les cellules mammifères (cellules rénales embryonnaires humaines) pour la détection des molécules rompant les interactions entre protéines, interactions fondamentales à la plupart des processus biologiques (enzyme-substrat, récepteur-ligand, voies de transduction des signaux). **Ces interactions présentent un grand potentiel à titre de cibles dans la mise au point de médicaments.**
- Un brevet pour une nouvelle méthode de conception et de **production de composés pharmacologiques nouveaux reposant sur des « points chauds » ou structures** que l'on retrouve dans de nombreux médicaments déjà sur le marché, aux indications variées. La banque combinatoire ciblée de médicaments peut ensuite être utilisée pour cribler toute une variété de cibles pathologiques à des fins potentiellement thérapeutiques.
- Un brevet pour un nouvel usage de la levure *S. cerevisiae* à titre de vecteur pour évaluer l'effet de banques de composés sur la fonc-

tion/expression de gènes mammifères. Une formule rapide et non coûteuse d'identification des composés modulant la fonction des gènes mammifères jouant un rôle dans des maladies comme le cancer.

- Un brevet en instance pour un procédé biologique ayant permis **l'extraction de nitrates présents dans les eaux souterraines.** Les nitrates présents dans l'eau représentent un danger pour la santé, notamment celle des enfants. Dans le cadre de ce projet de cinq ans du CNRC et de la Défense nationale, les chercheurs utilisent la modélisation pour caractériser les systèmes contaminés et mettre au point un protocole utilisant l'éthanol afin d'abaisser la concentration d'oxygène dans le sol et comme source d'énergie pour les micro-organismes dénitrifiants.
- Une demande de brevet provisoire, avec le Réseau de recherche sur les pathogènes du porc (CRSNG) de l'Université de Montréal, pour une technique rapide et facile, à base de biopuces d'ADN, **pour l'identification des souches virulentes de la bactérie *E. coli*.** La technique permet d'identifier les enzymes spécifiques de la souche, éliminant du même coup les épreuves immunologiques longues et fastidieuses. Les maladies impliquées sont les infections des voies urinaires, différentes formes de diarrhée et des pathologies graves comme le syndrome urémique hémolytique et la méningite.
- Deux brevets pour la bactérie *M. extorquens* comme système d'expression

protéique. Le but est de transformer le micro-organisme en un puissant système maison de **production de protéines industrielles, notamment celles dont les coûts de production sont élevés.**

Les scientifiques et ingénieurs ont découvert, développé...

- Un outil d'observation novateur pour surveiller le comportement des cellules vivantes **afin de monitorer les contaminants environnementaux, les pathogènes alimentaires et même l'efficacité de médicaments prototypes sur des maladies comme le cancer.** « Le captage de l'impédance électrique cellule-substrat » ou ECIS, mesure la mobilité des cellules vivantes fixées à de minuscules électrodes en or, ainsi que l'effet des substances inhibitrices (toxines, métaux lourds, inhibiteurs de la croissance, stimulants). L'épreuve, rapide (moins de 20 minutes), peut être adaptée afin de faire partie d'un système HTS.
- Un logiciel permettant de rechercher la complémentarité de charge parfaite entre deux molécules en interaction, permettant l'optimisation de la complémentarité de charge entre un ligand et son récepteur cible. Utile pour la **conception/modification d'hormones, d'inhibiteurs enzymatiques et d'autres molécules en interaction.**
- Un procédé de clonage de nombreuses oxygénases appelées mono-oxygénases de Baeyer-Villiger (MOBV), qui transfor-

ment les cétones en lactones ou en esters utilisés dans la fabrication des plastiques ainsi que la synthèse de produits pharmaceutiques. La réaction abiotique courante produit plus de déchets acides que de produits désirés.

- La structure moléculaire d'une importante protéine « portail » mitochondriale indispensable à la viabilité du pathogène fongique humain *C. albicans*. La protéine CaTom22 joue un rôle important dans le passage des protéines du cytoplasme vers l'intérieur des organites. Utile pour **le criblage de composés possédant des propriétés antifongiques**.
- Un système introduisant **une enzyme meurtrière ayant une spécificité élevée pour les cellules cancéreuses**. Cette collaboration IRB/ISB porte surtout sur une protéine de fusion constituée d'un anticorps spécifique des cellules cancéreuses et d'une enzyme capable de transformer un pro-médicament en toxine.
- Qu'une kinase de *C. albicans* déclenche des changements dans le cytosquelette lors du passage de la levure de l'état de bourgeonnement inoffensif, à l'état pathogène où il y a formation d'hyphes. L'enzyme fait partie des voies de signalisation fixant une molécule de phosphate à la myosine. Si on inhibe la phosphorylation de la myosine par des mutations ou l'élimination d'enzymes, les hyphes ne se forment pas. **Les inhibiteurs enzymatiques sont donc des antifongiques potentiels**.
- Des tests permettant de mesurer la présence de **centaines de micro-organismes pathogènes, en parallèle et dans une seule goutte d'eau**. La méthodologie pourrait détecter jusqu'à 500 pathogènes différents – cellulaires, bactériens et viraux – simultanément. Ces tests seraient moins coûteux et beaucoup plus rapides que les méthodes individuelles utilisées à l'heure actuelle qui dépistent un seul pathogène

- à la fois, et permettraient d'éliminer les problèmes de culture.
- Qu'il existe trois principaux modes de résistance de la levure pathogène *C. albicans* aux effets de l'antifongique couramment utilisé, le fluconazole. Les trois mécanismes sont liés à des pompes à médicament présentes dans la membrane cellulaire, donnant à penser que **les thérapies alternatives au traitement par le fluconazole pourraient être des médicaments anti-pompes**. (Collaboration IRB/ University of Toronto)
 - Une méthodologie de mutagenèse afin d'établir le site de fixation des ligands sur le récepteur TGF- β . La surexpression de TGF- β est liée aux maladies fibreuses comme la cirrhose du foie, la fibrose pulmonaire idiopathique et la glomérulonéphrite, car le facteur déclenche la production d'une quantité excessive de matière extracellulaire autour des cellules, compromettant leur fonctionnement normal. La méthodologie est un **instrument puissant d'analyse pour l'affinage de produits pharmaceutiques agissant sur les récepteurs et la découverte des modes d'action dont la description est requise lors de l'homologation des médicaments**.
 - Des biocapteurs obtenus par la nanofabrication d'électrodes dont la surface de captage présente un diamètre inférieur à 200 nm, que l'on peut introduire dans une cellule vivante pour suivre les processus métaboliques vitaux. En fixant une enzyme, la glucose-oxydase, sur l'électrode (l'enzyme lyse le glucose), on crée un **capteur des concentrations cellulaires de glucose en temps réel**. On a l'intention de réduire encore la dimension de l'électrode jusqu'à 20 nm.
 - La production, par différentes levures spéciales, d'HEMF, un composé aromatique naturel que l'on retrouve dans la sauce soja et qui posséderait des propriétés

- antitumorales. Les utilisateurs potentiels d'HEMF sont les producteurs de nutraceutiques ou aliments fonctionnels. Ses propriétés antitumorales potentielles pourraient en faire un **candidat pour des études de développement de médicaments**.
- Un procédé robuste et sûr pouvant être mis à l'échelle pour la production d'adénovirus purifiés, destinés aux expériences de transfert génétique dans le cadre d'études précliniques de partenaires externes **en vue de l'appliquer à la recherche en thérapie génique**. L'objectif est de faire passer les vecteurs de l'étape de la découverte à des produits injectables aux animaux, dans le cadre de programmes de recherche préclinique conformes à des protocoles rigoureux de sécurité. Cette recherche est réalisée avec l'Institut Lady Davis, l'Institut neurologique de Montréal et les universités de Montréal, Sherbrooke et Laval.
 - Une collaboration de l'IRB avec Environnement Canada a examiné les effets des concentrations de toxines, de nutriments et d'oxygène dissout sur la capacité des communautés des biofilms naturels à dégrader et/ou séquestrer certains métaux lourds, toxines et substances secrètes comme les composés de perturbation endocrinienne (EDC). Les travaux fournissent des renseignements importants, requis **pour réglementer la libération de matériaux industriels et agricoles dans les écosystèmes naturels**.
 - Une collaboration de l'IRB avec Pêches et Océans Canada, l'Institut océanographique Bedford, Environnement Canada et Trent University qui évalue **les effets cumulatifs des substances toxiques au port de Sydney (Nouvelle-Écosse) provenant de mares de goudron**. Le rôle de l'IRB est de quantifier et de caractériser les populations microbiennes dans les sédiments portuaires en utilisant les bio-

- puces, et de préciser la nature des changements dans la composition et l'activité métabolique des populations microbiennes avec le temps.
- Un projet de trois ans, de 1,7 million \$, pour **mettre au point des méthodes biologiques de dégradation de matières explosives** est maintenant prolongé afin d'y inclure des recherches sur un autre matériau énergétique chimique, un nouvel explosif appelé CL-20. Ce composé remplace les explosifs plus anciens et moins puissants que sont le TNT, HMX, et RDX. La recherche fait partie du U.S. Strategic Environmental Research and Development Program (SERDP). Les sols et les eaux souterraines des sites militaires partout dans le monde sont contaminés par ces explosifs.
 - L'armée américaine a accordé un contrat aux écotoxicologues de l'IRB pour la **mise au point de seuils de mesures de la toxicité écologique dans les sites contaminés par des explosifs**. Cet important contrat, partagé avec une société affiliée à l'U.S. Army, Geo-Centers Inc., a été accordé en raison de la réputation du groupe de l'IRB et de ses nombreuses publications, notamment des études de toxicité des contaminants explosifs.
 - La maison d'édition scientifique John Wiley & Sons d'Angleterre a publié, plus tôt cette année, un livre intitulé *Environmental Analysis of Contaminated Sites*, rédigé par trois chercheurs de l'IRB. Ce livre est une **synthèse de l'évaluation écotoxicologique appliquée à la gestion des sites contaminés**, et un ouvrage de fond pour les étudiants de troisième cycle, les responsables gouvernementaux en matière de réglementation et les experts conseils en environnement.

SECTEUR SANTÉ



Andrew Storer, Ph.D.
Directeur, Secteur Santé

Le Secteur Santé soutient la croissance de l'industrie pharmaceutique canadienne en poussant toujours plus loin sa recherche. Nous consacrons nos ressources à l'étude du **cancer** et des **maladies infectieuses**, domaines pour lesquels nous possédons une expérience reconnue et les technologies requises. Nous avons, en outre, entrepris d'élaborer un nouveau programme de recherche en protéomique structurale, une des plus importantes disciplines récentes liées à la recherche sur les protéines.

Le programme vise à élucider les structures des protéines et de leurs complexes lors d'importants processus biologiques comme les voies de signalisation cellulaire dans le cadre des recherches sur le cancer et les maladies infectieuses. La protéomique structurale est un complément de ces recherches et nous nous attendons à ce que des synergies se créent, renforçant ainsi les trois objectifs de recherche. Dans le cadre de cette nouvelle recherche, nous réussissons à mieux comprendre l'interaction des protéines et la nature des complexes formés, à l'échelle atomique. Dans la voie de signalisation des phéromones dans la levure, par exemple, nous espérons découvrir la nature des complexes protéiques qui se forment, se brisent et se reforment au fur et à mesure

que le signal du ligand se transmet dans le cytoplasme jusqu'au noyau. Afin de préciser la nature de ces interactions à l'échelle atomique, nous allons mobiliser un ensemble de techniques déjà utilisées par l'IRB pour les études de structure protéique, y compris la cristallographie par rayons X, la RMN et la modélisation mathématique.

Les systèmes protéiques à l'étude couvriront aussi bien les voies de signalisation de la levure ayant des implications en recherche sur les maladies infectieuses que les systèmes dans les cellules de mammifères ayant des répercussions dans la recherche sur le cancer. L'exploration fonctionnelle plutôt que statique de la nature des signaux nous permettra de mieux comprendre les anomalies moléculaires à la source des maladies et nous fournir ainsi des thérapies plus efficaces.

FAITS SAILLANTS

Portes ouvertes au laboratoire de RMN biomoléculaire

Les « portes ouvertes » du laboratoire de RMN biomoléculaire de l'IRB attirent encore de nombreux clients industriels et universitaires, accélérant l'acquisition de nouvelles connaissances et stimulant l'innovation dans l'industrie biotechnologique cana-

dienne. Le groupe de RMN des protéines de l'Université McGill a amorcé une huitième année d'activités fructueuses à l'IRB avec lequel il partage l'instrumentation de RMN. Prometic BioSciences, compagnie de biotechnologie localisée dans l'aile industrielle de l'IRB, a collaboré avec les chercheurs de l'IRB à la mise sur pied et à l'entretien des nouvelles installations de RMN de la société, d'une capacité de 400 MHz, destinées à la recherche de nouveaux médicaments. Dans ce cas, l'IRB fournit l'espace de laboratoire, le personnel de recherche et son expertise en RMN, en échange du temps d'accès à la RMN utilisée aux fins d'activités internes.

Saisir la fixation du ligand

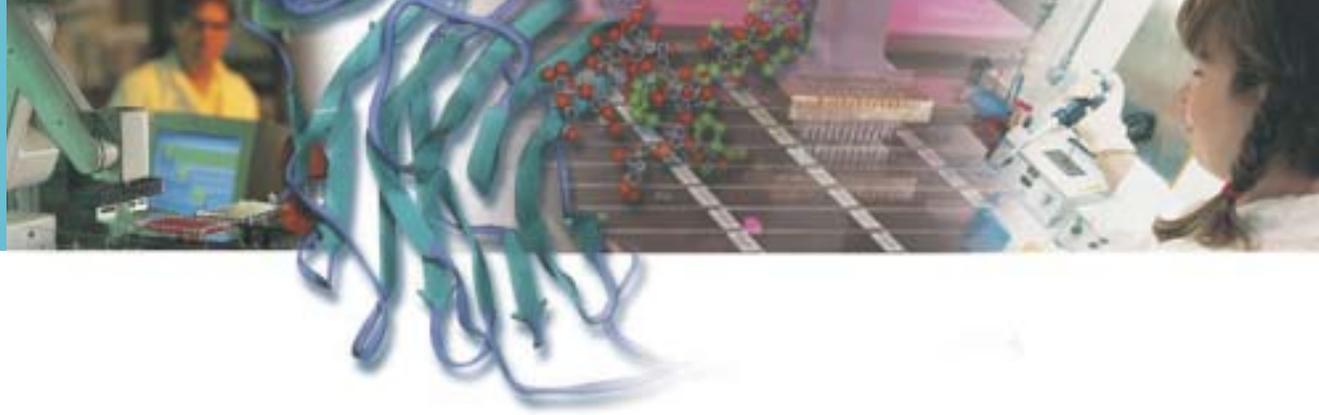
L'IRB a déposé une demande de brevet provisoire pour une formule de mesure de la force de fixation des ligands aux molécules cibles, brevet intitulé « Classification quantitative de la fixation de ligands aux protéines cibles par spectroscopie RMN ». Ces nouvelles méthodes de RMN répondent aux besoins de quantification de la cinétique de fixation des complexes transitoires protéine-ligand, c'est-à-dire des complexes qui se forment pour se dissocier ensuite, plutôt que de se fixer de façon solide et permanente. À ce jour, les méthodes accessibles n'examinent que cette

dernière forme de fixation moléculaire, qui représente seulement une fraction de la vaste gamme d'interactions du monde vivant.

De plus, de nombreuses technologies de découverte de médicaments laissent tomber de nombreuses molécules ligands et complexes protéine-ligand transitoires ou de faible fixation, rarement caractérisés mais offrant beaucoup de potentiel. Notre nouvelle technologie exploite la puissance unique de la spectroscopie RMN dans la quantification des constantes de vitesse de dissociation des complexes moléculaires à dissociation rapide. La technologie permettra aux chercheurs de classer les ligands formant des complexes moléculaires transitoires avec les protéines cibles en termes de capacité de fixation. Cette méthodologie novatrice de l'IRB augmentera le pouvoir des industries biotechnologiques et pharmaceutiques dans la sélection de médicaments prometteurs. Elles s'assureront ainsi de ne pas oublier de composés pouvant servir de point de départ d'agents thérapeutiques nouveaux, lors du processus de criblage.

La synthèse de peptides à moindre coût

Les spécialistes de la RMN de l'IRB ont déposé un rapport d'invention pour une méthode efficace de production de pep-



tides recombinants utilisant de nouvelles protéines de fusion. Les méthodes couramment utilisées soulèvent de nombreux problèmes techniques, notamment la dégradation des peptides par les protéases dans les systèmes cellulaires, problème aigu dans le cas des peptides de petite taille aux propriétés pharmaceutiques. Les chercheurs ont conçu des protéines de fusion stables, ciblant les peptides intéressants à l'intérieur des corps d'inclusion cellulaire, les protégeant ainsi contre les attaques protéolytiques.

Cette invention efficace et rentable constitue un progrès par rapport aux méthodes purement chimiques de synthèse peptidique dont les matières de départ sont souvent coûteuses et les méthodes de purification, complexes. L'IRB prévoit la création d'une compagnie émergente (*spin-off*) pour la production de peptides destinés à la recherche en biotechnologie et à la découverte de médicaments.

La centrale cellulaire fournit des protéines pores

Un programme de recherche post-génomique par RMN de l'IRB a permis la découverte de la structure d'une importante protéine « portail », essentielle à la viabilité du pathogène fongique humain, *Candida albicans*. La protéine, CaTom22, est un composant fondamental des pores de la membrane externe des mitochondries et permet l'entrée des protéines dans l'organite, à partir du cytosol (corps de la cellule) correspondant à *Candida*, Tom étant l'acronyme de « translocase of the outer mitochondrial membrane » (translocase de la membrane mitochondrienne externe) et 22 indiquant qu'il existe de nombreuses protéines Tom. La structure élucidée ne correspond pas à l'ensemble Tom, mais plutôt à la partie située à la surface de la membrane mitochondrienne.

Environ 30 % des protéines de cellules eucaryotes appartiennent aux mitochondries et la plupart sont synthétisées dans le cytosol sous forme de pré-protéines, puis passent à l'intérieur de l'organite à travers des pores spéciaux. La région externe des pores est constituée de l'assemblage de plusieurs protéines Tom. Le groupe de l'IRB a réalisé des études précises des propriétés structurales et dynamiques de la protéine CaTom22

par RMN. Les résultats font état d'une structure, surtout hélicoïdale, au centre compact flanqué de quelques régions souples. Isolée, la protéine possède aussi une constante activité, fixant des pré-peptides de façon spécifique. Les chercheurs étudient maintenant les interactions de CaTom22 avec les peptides afin de découvrir des ligands modulateurs fonctionnels et antifongiques.

Ces travaux font partie d'un programme de recherche post-génomique d'envergure portant sur la découverte de protéines par expression rapide et l'étude des interactions protéine-protéine, la découverte de peptides par criblage de banques de protéines et caractérisation de complexes protéine-peptide transitoires et la détermination d'assemblages protéiques cellulaires et de complexes protéine-peptide stables. La recherche vise à accélérer le développement de médicaments par la découverte et la conception de nouveaux peptides pouvant se lier de façon spécifique à des cibles protéiques génomiques.

Puissance de prédiction des modèles mathématiques

Les spécialistes de la chimie computationnelle ont élaboré le modèle moléculaire d'une enzyme, la cathepsine X, en utilisant

la « modélisation par homologie », soit l'utilisation d'une autre protéase de cystéine de structure connue à titre de guide. Leurs travaux ont permis de découvrir une nouvelle propriété, inattendue, de l'enzyme habituellement impliquée dans l'apoptose cellulaire (mort cellulaire programmée). Le modèle montre qu'il existe une petite boucle d'acides aminés près du site actif, absente des homologues de l'enzyme (à la suite d'une mutation par insertion). De plus, la conformation la plus probable ou « d'énergie la plus faible » de cette boucle donne à penser qu'elle pourrait stabiliser l'interaction de l'enzyme avec les carboxyles C-terminaux. Une telle propriété pourrait lui conférer une activité carboxypeptidasique, c'est-à-dire la capacité de retrancher l'acide aminé terminal de la terminaison carboxyle d'un polypeptide. Les expériences ultérieures ont confirmé l'hypothèse, illustrant la valeur et la puis-



sance de prédiction de cette méthode de modélisation moléculaire.

Viser le site récepteur du TGF- β

Les spécialistes en modélisation informatique et récepteurs cellulaires ont conjugué leurs compétences afin de mieux comprendre la façon dont les ligands interagissent avec le récepteur du facteur de croissance transformant bêta (TGF- β). La synthèse rationnelle d'inhibiteurs pour le traitement des maladies fibreuses telles la cirrhose du foie, les maladies respiratoires idiopathiques et la glomérulonéphrite repose sur ces connaissances.

On a trouvé deux récepteurs de TGF- β , types I et II. Le facteur de croissance transformant se lie d'abord au type II puis interagit ensuite avec le type I afin de transmettre le signal dans la cellule. En utilisant d'autres domaines externes du récepteur (homologues) à titre de guides, les chercheurs ont construit des modèles des types I et II. Ceux-ci ont été utilisés afin de guider les chimistes des protéines dans la cartographie du site de fixation du ligand par mutagenèse, leur permettant d'expliquer pourquoi certains résidus jouent un rôle dans la fixation et non les autres.

Automatiser la quête du « couple parfait »

Les chimistes computationnels de l'IRB ont mis au point un logiciel appelé « Technologie de complémentarité de charge » qui permet de chercher le couplage parfait entre deux molécules en interaction en termes de charge électrique. Les chercheurs peuvent alors optimiser la complémentarité des charges entre un ligand et son récepteur cible, par exemple. De tels logiciels, qui ne sont pas disponibles, peuvent servir à la conception

ou à la modification d'hormones, d'inhibiteurs enzymatiques et de toute autre molécule dont l'activité biologique repose sur des interactions.

Profil protéolytiques et transition mortelle du cancer

Les chercheurs de l'IRB utilisent des méthodologies génomiques/protéomiques et des technologies cellulaires pour l'étude du rôle des enzymes dans le cancer. Le groupe connaît bien une famille de protéases, les cathepsines, dont l'activité est souvent mal élucidée à l'échelle cellulaire, notamment celle des cathepsines découvertes récemment (on en compte à l'heure actuelle 11 dans cette famille). Les cathepsines jouent un rôle dans de nombreuses maladies, y compris l'ostéoporose et l'asthme.

La démarche du groupe consiste à examiner l'expression génétique de l'enzyme dans les cellules humaines lorsqu'elles passent de l'état normal à l'état cancéreux. L'idée est de comparer l'expression (en insistant sur les cathepsines) avant et après la transition afin d'identifier les enzymes ayant subi une régulation à la hausse pendant le processus. L'élévation de la concentration de ces enzymes peut être la cause de la transition ou y être simplement liée.

Les chercheurs font le criblage d'inhibiteurs enzymatiques en utilisant une méthodologie de la génomique chimique, puis utilisent les petites molécules identifiées comme étant des inhibiteurs dans les cellules en voie de transition, dont ils surveillent les changements phénotypiques (notamment la mobilité et le caractère invasif). Si l'inhibiteur bloque la transformation, on en déduit que l'enzyme a un rôle causal et que l'inhibiteur se qualifie comme agent thérapeutique potentiel contre le cancer.

Le groupe a identifié de nombreuses petites molécules modulant l'activité de ces enzymes. En collaboration avec les chimistes computationnels, ils ont développé un nouveau peptide mimétique inhibant sélectivement les cathepsines, surtout la cathepsine L. L'inhibiteur, non covalent et réversible, présente un potentiel thérapeutique. L'IRB a déposé une demande de brevet provisoire pour cet inhibiteur.

Les travaux sont réalisés en collaboration avec le groupe des Récepteurs, signalisation et protéomique, qui a développé un modèle de transition dans lequel des cellules pulmonaires saines se transforment en cellules cancéreuses si on les traite par des stimulants du récepteur EGF (lignée cellulaire du cancer broncho-pulmonaire A549) et qui contribue aux épreuves phénotypiques.

Perfectionner la balle magique

Les enzymologistes de l'IRB collaborent avec des chercheurs de l'Institut des sciences biologiques du CNRC à Ottawa, dans la production d'un système d'administration d'une enzyme meurtrière très spécifique dans les cellules cancéreuses. La recherche porte sur une protéine de fusion, constituée d'un anticorps spécifique des cellules cancéreuses et d'une enzyme capable de modifier un « pro-médicament » en une toxine. On vise à ce que le pro-médicament, injecté dans l'organisme, soit découpé par l'enzyme et ainsi transformé en une toxine spécifique des cellules cancéreuses, l'anticorps servant de tête chercheuse. À ce jour, le problème est que la fraction enzymatique de la protéine de fusion est reconnue par le système immunitaire. L'IRB a découvert une enzyme présentant une immunogénicité très faible, mais qui ne lyse pas efficacement le

pro-médicament. Les travaux sont en cours afin d'améliorer l'activité catalytique.

Détermination rapide de la structure des protéines

Le programme de génomique structurale de l'IRB, visant à accélérer la détermination des structures protéiques par l'automatisation et le traitement en parallèle, a maintenant deux ans et des progrès notables à son actif. La base de connaissances des gènes codant les protéines produites par les organismes vivants est maintenant énorme. Cependant, les efforts internationaux de clonage et d'expression, de purification, de cristallisation et de détermination de la structure de ces protéines accusent du retard. Les structures protéiques tridimensionnelles fournissent des renseignements précieux sur l'activité biologique de ces molécules, sur ce qu'elles font et comment. Par exemple, la science peut décrire les réactions enzyme-substrat et la séquence des interactions moléculaires lors de la transduction des signaux, mais la connaissance des interactions protéiques à l'échelle atomique est encore grandement lacunaire.

L'IRB atteint cet objectif en remplaçant le paradigme en série et empirique de ce processus en une opération automatisée de traitement en parallèle, éliminant l'intervention humaine autant que possible. L'IRB s'est d'abord concentré sur un système bactérien, la bactérie à tout faire *E. coli* K12 afin de simplifier le protocole. Le clonage et l'expression des gènes bactériens est relativement simple comparativement à ceux des gènes mammifères. L'an dernier, le groupe a déterminé quelque 14 structures protéiques différentes d'*E. coli*.



Les intérêts du groupe couvrent cependant toute la protéomique. Dans le cadre d'un projet de génomique structurale bactérienne parrainé par les Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC), le groupe a travaillé à combler les lacunes de la structure enzymatique des voies métaboliques chez *E. coli* (biosynthèse de l'histidine, enzymes de modification de l'ARN). Il s'est penché sur les protéines exprimées chez les pathogènes, tel *E. coli* O157 de Walkerton, qui n'apparaissent pas chez K12 et pourraient participer à la pathogénèse. Le groupe a aussi cherché à lier structure et fonction en se fondant sur leurs connaissances de la structure protéique, car près de 60 % des gènes bactériens codent des protéines dont la fonction est encore inconnue.

Parmi toutes les difficultés auxquelles le groupe a été confronté, deux des plus importantes ont été l'expression et la cristallisation des protéines, notamment les protéines des systèmes mammifères.

Le groupe a mis au point des méthodes parallèles de clonage simultané de 40 à 60 gènes et testé différents vecteurs de clonage avant d'en adopter deux ou trois donnant les meilleurs rendements et les protéines les plus pures. L'équipe a aussi tiré plein parti des systèmes robotiques HTS de l'IRB et du laboratoire de biopuces en automatisant la majeure partie des expériences de clonage les plus récentes.

Les protocoles de cristallisation ont aussi subi une robotisation, utilisant des plaques de 96 puits pour la mise à l'essai de différentes conditions de cristallisation. La préparation d'une plaque de 24 puits prenait autrefois quelque 45 minutes; aujourd'hui la robotique permet de préparer trois à quatre plaques de 96 puits à l'heure. Des problèmes persistent cependant. Seulement 40 % des protéines fournissent une certaine forme cristalline et, de ce nombre, environ la moitié donne des cristaux dont la qualité de diffraction permet l'analyse structurale. Seulement 15 à 20 % des protéines fournissent des structures correctes. Afin d'augmenter cette proportion, les chercheurs modifient les entités génétiques changeant ainsi les caractéristiques de cristallisation des protéines exprimées. Ils contournent aussi le problème en cherchant des homologues d'autres espèces pouvant cristalliser. En effet, le but du groupe est de déterminer les structures de familles protéiques plutôt que les protéines d'organismes déterminés.

À l'heure actuelle, le groupe apporte sa collaboration à de nombreux projets d'envergure. En plus des travaux en collaboration avec les IRSC, les chercheurs participent à des études sur les complexes protéiques et les protéines membranaires, dans le cadre de l'Initiative du CNRC sur la génomique en santé (IGS) et du projet de

12 millions \$ sur trois ans de Génome Québec en pharmacoprotéomique.

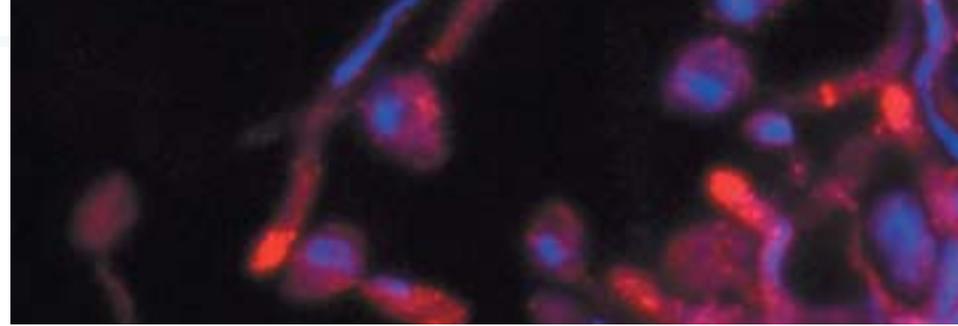
Vecteurs de génomique et de thérapie génique

Les experts de l'IRB en conception de vecteurs de transfection génétique ont poursuivi leurs travaux sur de nouveaux vecteurs et lignées cellulaires aux fins de production de protéines, de thérapie génique et d'études de génomique fonctionnelle. Ils mettent au point des vecteurs pour la production de protéines recombinantes (vaccins, cytokines, anticorps chimériques) et améliorent les vecteurs viraux en insistant sur les adénovirus, mais aussi les AAV (virus adéno-associés) et les rétrovirus.

Le laboratoire cherche à créer des vecteurs ciblant des tissus particuliers afin de localiser l'expression des gènes pouvant éliminer les cancers ou fournir des substituts génétiques dans le cas d'autres maladies. Une méthode consiste à créer un virus dit « Téflon » en modifiant la protéine de la capsid adénovirale qui se fixe au récepteur de la surface cellulaire avant d'y pénétrer. Si on introduit, par transfection, un récepteur artificiel dans une cellule qui fixe le ligand artificiel (capsid modifiée), le ciblage du vecteur est précis et les problèmes de pantropisme (perte de virus, réaction immunitaire, toxicité) sont résolus.

L'IRB a développé de nombreux vecteurs à portée médicale, notamment un mutant adéno-viral offrant du potentiel en thérapie génique. Un gène de protéase a été éliminé en empêchant le virus de se répandre au-delà de la cellule infectée, transformant le virus en candidat idéal d'expression de transgènes à haut rendement dans un avenir rapproché. Comme le vecteur est sûr, parce qu'il ne se répand pas et qu'on peut l'exprimer rapidement, on peut l'utiliser pour les vaccins et l'administration de gènes toxiques, notamment dans le traitement du cancer. Un exemple est le traitement des glioblastomes, cancers cérébraux généralement mortels. L'IRB est en instance de brevet pour le système. Les chercheurs de l'IRB participent à un projet du National Cancer Institute sur l'utilisation d'un « promédicament » qui devient actif par lyse enzymatique. Le gène de l'enzyme pénètre dans la cellule cancéreuse grâce à un vecteur mis au point par l'IRB (injection directe). Le laboratoire utilise son propre « promoteur de cumate » qui, par induction enzymatique, provoque l'activation du médicament qui tuera la cellule. Le procédé acquiert encore plus de puissance par un effet dit de « voisinage », l'effet destructeur s'étendant aux cellules cancéreuses avoisinantes.

La recherche s'étend à la thérapie génique, mettant au point des vecteurs



pouvant effectuer des remplacements dans les cellules dont les gènes sont défectueux. L'IRB collabore avec l'Institut neurologique de Montréal au développement d'un vecteur du gène de la dystrophine, dont l'expression incorrecte entraîne la dystrophie musculaire de Duchenne. Le laboratoire développe également un vecteur de la phosphorylase, enzyme absente dans une maladie neuro-musculaire, le syndrome de McArdle.

En génomique fonctionnelle, le laboratoire développe des banques antisens visant à éliminer l'activité des gènes surexprimés dans les états pathologiques et étudier l'expression génétique en général. Il collabore avec le Réseau de cellules souches d'Ottawa, qui fait partie des Réseaux de centres d'excellence (RCE), au développement de vecteurs lentiviraux pour l'étude de la fonction génétique des cellules souches. Ces rétrovirus intègrent leur matériel nucléaire dans les chromosomes, ce que ne font pas les adénovirus. L'idée est de surexprimer les gènes par l'administration de virus afin d'élucider les schémas d'expression normaux, leur déroulement dans le temps, et ainsi de suite.

Conception accélérée de médicaments

Le groupe de Biologie chimique de l'IRB a déposé une demande de brevet pour une nouvelle méthode de conception et de pro-

duction de composés pharmacologiques nouveaux offrant une probabilité de création de candidats thérapeutiques supérieure à celle des méthodes actuelles. La méthode consiste à concevoir des banques ciblées de composés d'intérêt thérapeutique et s'appuie sur le fait que les 10 000 médicaments commercialisés à ce jour présentent dans leur structure des « points chauds » et que ces éléments structuraux se retrouvent dans de nombreux médicaments aux indications très variées.

La méthode proposée d'« évolution de médicaments » débute par l'identification de ces blocs de construction dans les médicaments connus, déjà sur le marché, aux usages thérapeutiques et activités diverses. Ensuite, on identifie les chaînes latérales fixées à ces unités centrales et on les utilise comme point de départ de la production de nouveaux ensembles de chaînes latérales en remplacement des chaînes originales. Le but est de créer de nouvelles combinaisons de blocs de construction centraux dont les chaînes latérales sont configurées de toutes les façons possibles et préférentiellement à l'aide de la chimie combinatoire.

Les banques de composés sont ensuite examinées afin de vérifier quels composés sont déjà des médicaments. On s'attend à découvrir de nombreux nouveaux médicaments ou candidats théra-

peutiques dans une banque contenant déjà des médicaments. La banque combinatoire ciblée peut alors servir au criblage de différentes cibles pathologiques à des fins potentiellement thérapeutiques.

La méthode se distingue des autres en ce qu'elle n'exige aucune connaissance *a priori* des maladies ciblées, tels que les sites actifs d'enzymes ou les sites de fixation des récepteurs impliqués dans la maladie. De même, on ne présume rien de l'activité biologique de ces composés « modulaires » nouveaux, car leurs indications potentielles n'ont rien en commun avec celles des composés originaux qui partagent avec elles les « points chauds ». La méthodologie table sur le fait qu'au cours des ans, surtout au cours du siècle dernier, la mise au point des médicaments a permis d'isoler de nombreuses structures pharmacophores efficaces dans le traitement des maladies. C'est pourquoi les chercheurs de l'IRB reconstruisent simplement ces structures dans de nouvelles configurations en vue du traitement d'une grande variété d'états pathologiques. Autrement dit, un médicament efficace contre une maladie du cerveau pourrait être modifié afin de traiter le foie ou les reins.

Médicaments inhibiteurs de la réticulation des protéines (glycosylation)

Une des retombées de la nouvelle formule

de conception de médicaments fondée sur de nouvelles indications de composés commerciaux (voir ci-haut) vise une condition appelée glycosylation. Les chercheurs de l'IRB ont acheté environ 2000 médicaments commerciaux et testé leur pouvoir d'inhibition de la glycosylation. Ce processus spontané, non enzymatique, consiste en la liaison des protéines entre elles par la présence de sucres formant des liaisons pentosidines entre les résidus de lysine.

Normalement, le processus est passablement lent à la température du corps humain et la glycosylation ne pose habituellement pas de problème car la plupart des protéines se renouvellent régulièrement. Deux importantes protéines se renouvellent relativement lentement, le collagène, partout dans le corps, et la protéine du cristallin de l'œil. La glycosylation du collagène entraîne la perte de souplesse chez les personnes âgées et les cataractes, par opacification du cristallin. Le processus est accéléré dans les maladies comme le diabète.

Les travaux de l'IRB ont permis de découvrir de nombreux médicaments commerciaux inhibant la glycosylation (mesures par fluorescence et par spectroscopie de masse, car la glycosylation entraîne une augmentation de la masse moléculaire). Certains des composés inhibent la réticulation très efficacement, un de ceux-ci présentant une activité 60

fois supérieure à celle de l'aminoguanidine, médicament utilisé pour le traitement de la glycosylation dans le cadre d'épreuves cliniques aux États-Unis. À l'heure actuelle, le médicament a une autre indication et les chercheurs de l'IRB travaillent à éliminer cette activité pharmacologique sans réduire la capacité du produit d'inhiber la glycosylation.

... et autres cribles commerciaux

En réalisant le criblage de médicaments commerciaux en vue de nouvelles indications, le groupe de l'IRB a aussi découvert un produit inhibant les enzymes des cellules cancéreuses. Les chercheurs ont acheté 1000 analogues du médicament et découvert que l'un d'entre eux était supérieur en termes d'inhibition enzymatique. Ils ont ensuite acquis 200 analogues de ce variant particulier et ont aussi réalisé la synthèse de leurs propres 50 analogues. Grâce au système à double hybride mammifère de l'IRB, l'équipe est en voie de déterminer des parties importantes de la structure de la molécule inhibitrice.

Les récepteurs modulent notre vision des maladies fibreuses

Les chercheurs de l'IRB, experts en structure et fonction des récepteurs de la membrane cellulaire, poursuivent l'élucidation de l'activité biologique du facteur de crois-

sance transformant bêta (TGF- β) et de son mode d'interaction avec son (ses) récepteur(s). L'objectif à long terme est de concevoir des ligands pouvant bloquer le récepteur du TGF- β , car sa fixation déclenche le signal de maladies fibreuses telles la cirrhose du foie, la sclérose pulmonaire idiopathique et la glomérulonéphrite. Dans ce dernier exemple, une intensification des signaux entraîne l'accumulation excessive de matière extracellulaire autour des cellules, empêchant leur fonctionnement normal. (On a démontré que le TGF- β est surexprimé dans ces maladies et la recherche sur des modèles animaux montre qu'on soulage les symptômes en bloquant le facteur.)

L'IRB utilise la mutagenèse afin de déterminer le point de fixation du TGF- β au récepteur et quels acides aminés sont impliqués. On sait que le TGF- β se fixe d'abord à un récepteur de type II de la membrane cellulaire, et que le complexe se fixe ensuite à un second récepteur, de type I. Le complexe peut alors se déplacer dans la membrane et à l'intérieur du cytoplasme cellulaire pour y transmettre son signal (voir ci-dessous).

En réalisant la mutation de sites vraisemblables de fixation des récepteurs de types I et II, les chercheurs ont identifié les acides aminés nécessaires à la fixation. Ils ont ensuite utilisé les modèles structuraux des types I et II élaborés par les

chimistes computationnels (fondés sur des homologues) à titre de guides. On a ainsi découvert que les sites de fixation n'étaient pas ceux que la modélisation moléculaire considérait comme étant les plus probables, ce qui illustre les forces et les faiblesses de la modélisation.

Les résultats de l'IRB concordent avec ceux d'un laboratoire texan, qui a publié la structure par diffraction des rayons X d'un complexe ligand de type II, ainsi que les données d'arrimage du type I au complexe.

Nos connaissances du déroulement réel de la fixation du ligand au récepteur ne sont pas encore précises. Peut-être le ligand permet-il un rapprochement des récepteurs I et II à la surface, puis relie ensuite les régions internes des récepteurs pour la transmission du signal. Il est aussi possible que les récepteurs I et II soient déjà réunis à la surface et que le ligand se contente de les réorienter modifiant l'orientation interne du même coup. Le groupe de l'IRB penche plutôt vers cette dernière explication. Deux articles ont été publiés sur les travaux de mutagenèse. La méthode par mutagenèse est une formule d'analyse très puissante pour l'affinage d'agents pharmaceutiques agissant sur les récepteurs et la description du mode d'action exigée lors de l'homologation des médicaments.

Des bathysphères moléculaires transportent le signal dans les profondeurs

Les spécialistes des récepteurs de l'IRB élucident le mécanisme permettant au TGF- β d'envoyer son signal à l'intérieur de la cellule cible. Le signal n'est pas simplement transmis par un récepteur, relativement stationnaire, à d'autres structures du cytoplasme. Le ligand, complexé à ses deux récepteurs (types I et II), est plutôt internalisé et se déplace dans le cytoplasme à l'intérieur d'une structure sphérique appelée « endosome ». Le complexe ligand passe d'abord dans une petite invagination ou « crevasse » qui se détache pour se déplacer ensuite à travers la membrane plasmique, puis dans le cytoplasme. De nombreux récepteurs-ligands se comportent de cette façon, mais les chercheurs ont découvert que le revêtement de clathrine que l'on retrouve souvent autour de l'endosome naissant, qui se retrouve dans plusieurs cas de l'action récepteur-ligand, est absent dans le cas du complexe TGF- β -récepteur. Les protéines de clathrine forment une « cage » autour du complexe. Un troisième type de récepteur de TGF- β , le type III, participe aussi au processus. On a d'abord pensé que ce récepteur aidait simplement à livrer le TGF- β au récepteur de type II, mais les travaux de l'IRB et du Whitehead Institute ont montré que le domaine intérieur du récepteur de type III

est indispensable à la bonne signalisation de certaines sortes de cellules.

La recherche sur le TGF- β est importante à cause de son rôle complexe dans l'évolution du cancer. Aux premières étapes du développement d'une tumeur, les cellules perdent souvent leur capacité de signalisation par TGF- β , signalisation qui tend à inhiber la croissance. Plus tard cependant, le facteur aide à la croissance en provoquant une transition épithélium-mésenchyme. Presque tous les cancers humains commencent sous la forme de tumeurs épithéliales (les cellules épithéliales recouvrent le corps – peau, muqueuse pulmonaire, muqueuse des voies digestives, etc.), alors que les cellules mésenchymateuses sont de type stromal ou fibroblastique (impliquées dans la matrice cellulaire). Les cellules cancéreuses abaissent d'abord les concentrations de TGF- β , puis l'augmentent. Sous l'influence de cette augmentation, les cellules croissent plus rapidement, deviennent plus mobiles, se déplacent dans la circulation sanguine, produisent des facteurs angiogéniques et deviennent plus agressives, plus envahissantes.

Une nouvelle classe d'analgésiques – L'IRB montre la voie

Le clonage d'une famille de récepteurs, présents seulement dans certaines cellules nerveuses transmettant le signal de la douleur, a mené à la découverte d'une nouvelle classe d'analgésiques potentiellement puissants. Les travaux sont réalisés en collaboration avec les

chercheurs du groupe de Génétique des cellules de mammifères de l'IRB et la compagnie pharmaceutique AstraZeneca.

L'IRB a rapidement cloné une famille de récepteurs « orphelins » (le « ligand » qui les activait étant alors inconnu) de cellules nerveuses transmettant les signaux douloureux provenant de la peau et des tissus (neurones sensoriels ou « nociréceptifs »). Ces récepteurs, couplés aux protéines G intracellulaires, se retrouvent seulement sur ces petits neurones sensoriels. La famille de récepteurs a été pertinemment appelée « récepteurs couplés à la protéine G spécifiques des neurones sensoriels » ou, simplement, RSNS.

Les chercheurs d'AstraZeneca ont ensuite découvert que BAM22, produit naturel de la protéolyse de la proencéphaline A (précurseur d'un peptide opioïde endogène), se fixe aux RSNS. Certains des fragments de dégradation de BAM22 se fixent aussi aux RSNS. Les résultats donnent à penser que les RSNS ne sont pas vraiment « orphelins » étant donné que leurs ligands naturels, le peptide opioïde BAM22 et ses fragments, ont été identifiés.

Fait très surprenant, le BAM22 possède aussi une région de sa structure dite opioïde (lui permettant de se comporter comme un opiacé), ainsi qu'une région non opioïde. Cette dernière se fixe aux RSNS, donnant à penser que la modulation de l'activité du récepteur et celle du signal de la douleur relèvent de mécanismes distincts.

L'importance de ces travaux et l'enthousiasme qu'ils suscitent viennent de ce que les RSNS se limitent aux neurones de

transmission du signal de la douleur et que le BAM22 semble posséder des propriétés de modulation passablement distinctes de son rôle d'opiacé. C'est pourquoi les RSNS sont de parfaites cibles thérapeutiques et le BAM22 un candidat thérapeutique idéal.

Tel que le cite *Nature Neuroscience* (mars 2002, vol. 5, n° 3, p. 185-6) : « le clonage des RSNS est d'importance clinique, car les ligands des RSNS pourraient être développés en vue du traitement de pathologies chroniques douloureuses dont certaines résistent aux opiacés. De plus, la distribution très restreinte des RSNS offre un grand avantage dans le développement de médicaments ayant des effets indésirables limités ».

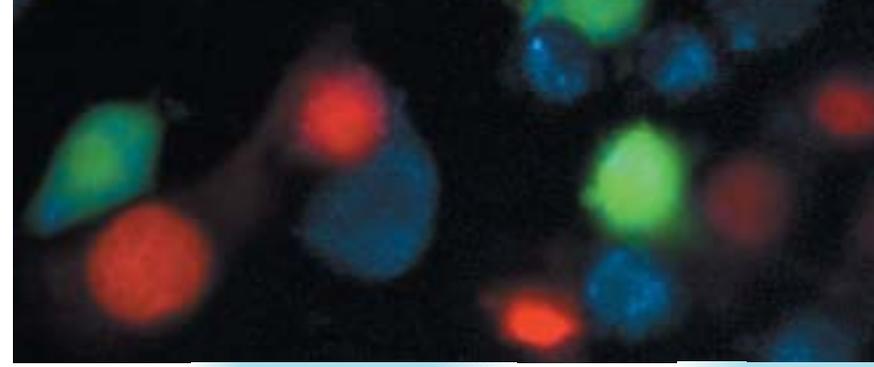
Identifier les agents de rupture des interactions protéine-protéine – L'IRB dépose une demande de brevet

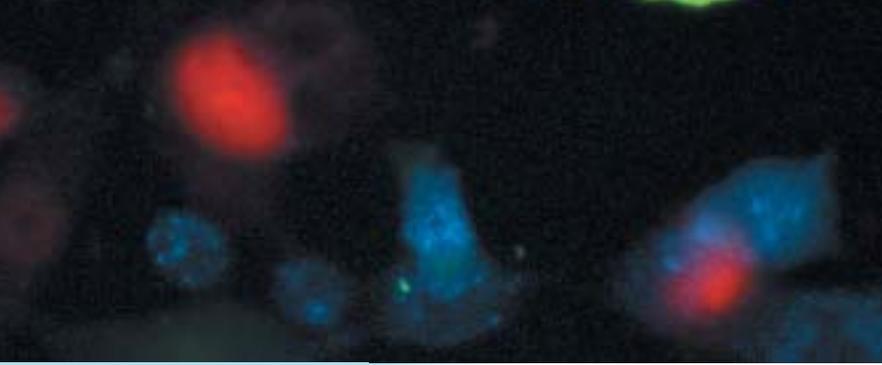
Les experts de l'IRB en Génétique de cellules mammifères ont déposé une demande de brevet pour une technique utilisant les cellules de rein embryonnaire humain pour le dépistage de molécules provoquant la rupture des interactions entre protéines. Les interactions protéiques sont cruciales dans la plupart des processus biologiques, tels que les complexes enzyme-substrat et récepteur-ligand, ainsi que les multiples complexes protéiques des voies de trans-

duction des signaux. Les interactions ont donc un grand potentiel comme cibles du développement de médicaments.

En bref, on intègre deux protéines connues pour leur interaction dans le complexe moléculaire contrôlant l'expression d'un gène rapporteur, (si le gène est activé, on peut l'identifier facilement comme c'est le cas avec la protéine à fluorescence verte). Dans le système de l'IRB, les sous-unités de l'activateur sont tout d'abord exprimées puis se réunissent pour déclencher l'expression du gène rapporteur et produire la coloration. Autrement dit, si l'ajout de la molécule à l'essai ne rompt pas le lien entre les deux protéines, la coloration du rapporteur apparaît. L'absence de coloration signifie par contre que la substance a rompu le complexe et se qualifie à titre de candidat thérapeutique.

Une des forces de la technique de l'IRB est que l'on peut l'adapter facilement aux systèmes de criblage à haut rendement. La plupart des autres formules de mesure des interactions protéiques reposent sur les levures et les bactéries. Celles-ci ne possèdent pas les mêmes caractéristiques de perméabilité que les cellules mammifères (cibles ultimes de la mise au point de médicaments) ni la même capacité de modification des protéines en post-translation.





La technique a déjà permis d'identifier avec succès de nombreux inhibiteurs d'une protéine, la tyrosine-kinase, d'une banque de médicaments.

Candida et PUCES – Le plus récent exploit du laboratoire de l'IRB

Le groupe de Génétique de l'IRB se concentre sur les mécanismes moléculaires régissant le passage de *Candida albicans* de l'état de bourgeonnement inoffensif à l'état pathogène sous forme de longs hyphes. De nombreuses sociétés pharmaceutiques cherchent à découvrir des médicaments pouvant stopper les infections par *C. albicans* chez les humains, potentiellement mortelles chez les patients immunosupprimés à la suite d'une chimiothérapie ou d'une greffe de tissu.

Pour que les cellules abandonnent le mode de croissance par bourgeonnement, des signaux en provenance du milieu extérieur doivent se transmettre jusqu'au noyau des cellules et c'est précisément à ce système de signalisation que les chercheurs s'intéressent. Ils observent les changements génétiques provoquant la transformation en utilisant la puissance des biopuces d'ADN qui permettent de comparer et de mettre en relief les schémas d'expression génétique du passage.

Stimuler les gènes de défense

Les biopuces de l'IRB sont tellement sensibles que de nombreux nouveaux gènes stimulant le processus de passage du bourgeonnement aux hyphes ont été détectés, notamment des gènes de phosphatase et de superoxyde-dismutase pouvant détruire de dangereux produits chimiques tels que les entités à oxygène réactif. La production de ces enzymes pourrait faire partie des mécanismes de défense du pathogène contre les phagocytes, qui tuent les envahisseurs en les phagocytant et en libérant une charge mortelle oxydative de peroxydes et de radicaux libres. Les changements génétiques les plus importants se produisent cependant au niveau des protéines de la surface cellulaire de la levure. Les chercheurs examinent ces molécules souvent répétitives et mal connues.

Composer avec le stress

Les biopuces ont été utilisées pour l'examen de divers schémas de stress observés lorsque les cellules de levure sont soumises à un choc thermique, osmotique ou oxydatif. Dans tous les cas, les cellules réagissent en mobilisant tout un ensemble de gènes de façon passagère. Chez *S. cerevisiae*, il existe beaucoup de chevauchements dans les gènes induits par ces différents stress, à un point tel que l'on reconnaît maintenant un schéma général

de réaction au stress. Autrement dit, les différents stress provoquent chez *S. cerevisiae* des gènes particuliers au stress, mais stimulent aussi une classe plus universelle de gènes. *Candida albicans*, cependant n'a pas cette réaction globale, même s'il réagit parfaitement bien aux stress thermique, osmotique et oxydatif. Cette observation concorde avec d'autres travaux, notamment ceux d'un laboratoire d'Aberdeen, en Écosse, qui a identifié des gènes de *C. albicans* homologues aux régulateurs de la réaction globale au stress chez *S. cerevisiae*. Si on inhibe ces homologues, on ne modifie pas la réaction de *C. albicans* au stress. Peut-être ont-ils été mobilisés par d'autres activités au cours de l'évolution du pathogène.

Cycle cellulaire et formation d'hyphes

Dans une autre étude, on a montré que l'inhibition d'une kinase du cycle cellulaire de *C. albicans*, pousse le micro-organisme à former des hyphes sans les signaux externes habituels. Autrement dit, un mécanisme interne prend la relève des signaux extérieurs. Ce lien surprenant entre le cycle cellulaire et la formation des filaments est le premier regard que porte le groupe sur les mécanismes internes de contrôle de la formation des hyphes.

Le cytosquelette d'actine

Une fois reçus les signaux en provenance de l'environnement, déclencheurs du passage de l'état inoffensif à celui de croissance des hyphes, certains processus doivent être activés en vue de changer de mode de croissance. Une des protéines

indispensables au changement est la myosine de type 1, une protéine motrice intracellulaire participant à l'organisation du cytosquelette d'actine (caractéristique essentielle de la croissance cellulaire). Les chercheurs ont montré que la fixation d'une molécule de phosphate à la myosine par une kinase impliquée dans la voie métabolique provoque des changements dans le cytosquelette. Si on bloque la phosphorylation de la myosine par des mutations ou la destruction complète de la molécule, la structure de l'actine est perturbée et les hyphes ne se forment pas.

Résistance au fluconazole

Des chercheurs de University of Toronto ont cultivé de nombreuses populations de *C. albicans* pendant plus de 300 générations en présence d'un antifongique, le fluconazole. Au cours de cette période et pendant que le pathogène s'adaptait au médicament, on a établi des profils de transcription en utilisant les biopuces de l'IRB afin d'examiner la façon dont les levures développent leur résistance au médicament. Il s'avère que les populations peuvent recourir à divers modes de résistance, mais que ceux-ci sont relativement peu nombreux. On a découvert trois principaux modes de résistance aux effets du médicament et les trois sont liés à des pompes à médicaments au niveau de la membrane cellulaire. Les résultats donnent à penser qu'on pourrait surmonter la résistance pharmacologique en s'attaquant à ces pompes, c'est-à-dire en administrant des agents anti-pompes en appoint au fluconazole.



Denis Groleau, Ph.D.
Directeur, Plateforme Bioprocédés

PLATEFORME BIOPROCÉDÉS

Le Secteur des Bioprocédés (maintenant Plateforme Bioprocédés) est leader dans le domaine à l'heure actuelle et jouit d'un positionnement privilégié, face à un avenir aux nombreux défis. L'excellence de nos travaux vise à repousser les frontières des bioprocédés en conjuguant nos forces en biologie et en ingénierie au profit de l'industrie biotechnologique canadienne et de la communauté scientifique.

Nos chercheurs font de la recherche ciblée en collaboration avec l'industrie, les universités et d'autres partenaires nationaux et internationaux tout en participant à différentes activités de formation. Seuls ou en partenariat, nous mettons au point et exploitons de nouvelles technologies génériques qui trouveront leur voie dans de nombreuses applications. Nous sommes conscients que l'économie actuelle, fondée sur le savoir, et les technologies qui lui sont liées sont en changement perpétuel et que nous devons maintenir la cadence afin de conserver notre leadership. Le progrès, habituellement graduel, fait parfois des bonds révolutionnaires. L'avenir appartient à ceux qui innovent, développent ou maîtrisent les nouvelles technologies, investissent dans la formation ou le perfectionnement de leurs employés, acceptent de courir des risques

et sont toujours à l'affût des opportunités. Dans un tel contexte, notre Plateforme est de plus en plus reconnue à titre de **Centre d'excellence national en bioprocédés**.

La Plateforme Bioprocédés réalise des travaux de recherche en production et purification de systèmes recombinants de microbes, d'insectes et de mammifères ainsi que de leurs produits. Ces produits sont des enzymes, des virus, des protéines recombinantes, des biopolymères, des réactifs destinés à la recherche, des produits chimiques « verts » et des bioinsecticides. Une grande variété de biocatalyseurs sont à l'étude, depuis les enzymes jusqu'aux systèmes cellulaires sophistiqués. Les scientifiques chevronnés de la Plateforme utilisent des technologies perfectionnées et les équipements les plus récents afin d'aider les industries biotechnologiques canadiennes et étrangères à la mise au point de leurs produits et procédés biologiques. La Plateforme poursuit le développement de son expertise en biologie moléculaire et en génie métabolique, et les connaissances nouvellement acquises sont appliquées avec succès à la résolution de problèmes industriels. La complémentarité de nos spécialités permet la mise au point de bioprocédés dans le cadre d'une démarche intégrée, c'est-à-dire depuis l'ADN jusqu'à la production et la

purification de protéines à l'échelle pilote. De plus, nous sommes impliqués dans la formation de nombreux jeunes chercheurs à différents niveaux.

Les activités de recherche de la Plateforme couvrent deux volets principaux. Les chercheurs du groupe de **Technologie microbienne et enzymatique** ont poursuivi les travaux de développement d'« usines cellulaires microbiennes » en utilisant la bactérie méthylootrophe *Methylobacterium extorquens* ou la levure méthylootrophe *Pichia pastoris*. Nous avons réalisé des progrès considérables avec la bactérie *M. extorquens* et espérons la transformer en un système d'expression procaryote breveté, destiné à des fins industrielles. Les chercheurs ont aussi conçu ou amélioré des réactions enzymatiques en milieu non aqueux qui serviront à la production de produits chimiques spécialisés et raffinés, notamment des agents pharmaceutiques. Nous avons aussi intensifié l'utilisation de techniques d'évolution moléculaire dirigée afin d'adapter les enzymes sélectionnées aux conditions du bioprocédé. Les chercheurs du **Groupe de culture de cellules animales et de séparation/purification** travaillent à des procédés intégrés, allant de la production à grande échelle de cultures cellulaires à densité élevée jusqu'à la purification de protéines

et de virus en utilisant des systèmes d'expression à base de cellules de mammifères et d'insectes. Le groupe participe aussi à des études de métabolisme cellulaire, au développement de techniques novatrices, au repliement de protéines et à la technologie d'adsorption sur couche expansée. Le groupe a notamment développé une technologie d'infection transitoire offrant un potentiel intéressant de production rapide de nombreux réactifs.

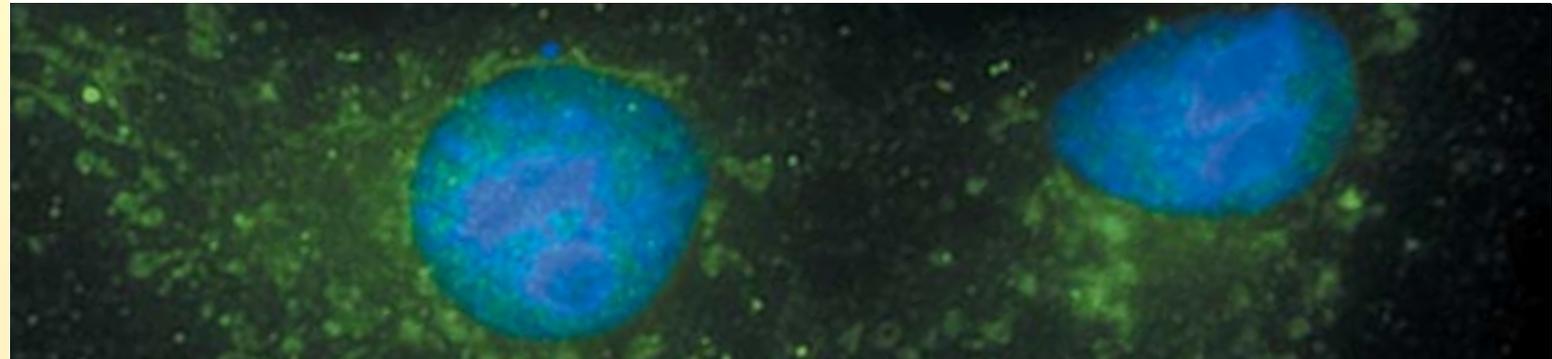
L'an dernier, à la suite de la publication du nouveau plan stratégique quinquennal de l'IRB, le groupe de Génie cellulaire animal (maintenant groupe de Vecteurs de génomique et de thérapie génique) s'est joint à la Plateforme Bioprocédés. On a aussi annoncé la création d'un groupe distinct de séparation/purification afin d'étendre nos activités de purification et de caractérisation de protéines. Enfin, nous avons obtenu le financement en vue de la construction d'une annexe de petite dimension à l'usine pilote de l'IRB et de l'achat d'un ensemble de plusieurs fermenteurs à faible volume. L'annexe permettra de libérer de l'espace précieux pour nos travaux dans les domaines critiques des bioprocédés.



FAITS SAILLANTS

Production de protéines par des usines cellulaires de levure

Dans le cadre de notre programme de recherche sur la levure méthylophile, *Pichia pastoris*, nous avons terminé notre étude du gène de la protéine à fluorescence verte (GFP) à titre de marqueur d'induction génétique et les clones résultant de ces travaux, sont utilisés à des fins de formation. En 2001-2002, nos efforts ont porté sur le clonage de gènes présentant un intérêt accru chez *P. pastoris* et sur la sélection de clones en préalable au développement, à l'optimisation et à la mise à l'échelle de bioprocédés. On notera les résultats récents du clonage d'un gène de la bactériocine chez *P. pastoris*, en collaboration avec un chercheur de l'Université Laval. La bactériocine, protéine de petite taille, possède des propriétés antibiotiques et pourrait un jour servir d'agent de conservation naturel de la viande et des produits laitiers. Notre objectif est de produire suffisamment de bactériocine afin d'alimenter les études de structure-fonction que suivront les études de mutation en vue de découvrir de nouvelles propriétés/applications. L'activité des bactériocines est habituellement très spécifique et vise généralement des espèces bactériennes étroitement apparentées.



Un nouveau nutraceutique?

L'IRB, en collaboration avec des chercheurs de Singapour et d'une compagnie canadienne, ont terminé une étude de deux ans portant sur la production de HEMF par différentes levures spécialisées. L'HEMF, agent aromatique naturel que l'on trouve dans la sauce soja, posséderait des propriétés antitumorales. Le laboratoire a précisé les conditions de fermentation favorables à la production de HEMF. Les rendements de HEMF atteignent cependant seulement la moitié de ceux que l'on vise. Les chercheurs sont conscients des limites du procédé, la lenteur des progrès étant attribuable à sa complexité et à sa très longue durée. Les utilisateurs potentiels de HEMF sont les producteurs de nutraceutiques ou aliments fonctionnels. Les propriétés antitumorales potentielles de cet agent aromatique pourraient aussi en faire le

candidat d'études de développement de médicaments. Le projet a reçu un financement supplémentaire en vue d'une troisième année de recherche portant sur le rendement, les méthodes d'extraction/purification et la mise à l'échelle.

Les bactéries s'expriment en termes protéiques

Les travaux de développement de la bactérie *M. extorquens* à l'IRB comme système de production de protéines présentant un intérêt industriel se sont poursuivis et visent quatre gènes : la méthane-mono-oxygénase soluble, l'alcène-mono-oxygénase, une protéine bioinsecticide, *CryIaA4*, et une protéine marqueur, GFP. Les chercheurs ont mis à l'essai les différentes entités génétiques élaborées au cours de l'année. Ils ont ainsi découvert que l'une d'entre elles permet une production rela-

tivement constante de protéine GFP pendant toute la durée de la croissance bactérienne et à des rendements très prometteurs. Déjà, les chercheurs sont en mesure d'augmenter l'expression de la GFP de 50 fois. Les études de mise à l'échelle et d'expression en présence et sans antibiotique sont en cours.

L'IRB a déposé deux demandes de brevet pour un système d'expression à base de *M. extorquens* en vue d'en faire un puissant système d'expression maison pour la production de protéines présentant une valeur industrielle, notamment les enzymes dont la production est coûteuse. Une société canadienne en émergence s'intéresse déjà au système. On peut faire croître la bactérie à densité élevée dans un milieu minimal, deux avantages importants en termes de biotransformation.

Les autres gènes sont à l'essai afin d'en mesurer le potentiel d'expression; on envisage de faire valoir les résultats en vue de commercialiser le système qui deviendrait ainsi une source de revenus.

Recherche en fermentation industrielle

L'IRB a réalisé la mise à l'échelle et l'optimisation partielle d'un processus de fermentation utilisant une espèce d'*Azotobacter* pour la production d'un polyester biodégradable, en collaboration étroite avec une jeune société canadienne, BioMatera. La compagnie utilise le polyester dans le développement de nombreuses applications potentielles, depuis le conditionnement jusqu'à la nanotechnologie en passant par les instruments biomédicaux, en collaboration avec différents partenaires. L'IRB continue de jouer un rôle déterminant auprès de cette société qui a obtenu le financement nécessaire à la poursuite de ses travaux de recherche.

L'IRB a poursuivi sa collaboration avec une compagnie américaine dans la production d'un bioinsecticide recombinant. Le laboratoire a aidé cette compagnie à inscrire un produit de première génération auprès de l'Environmental Protection Agency (EPA) des États-Unis.

L'IRB a aidé DSM Biologics (Montréal) dans le clonage, la sélection des clones, le développement et la mise à l'échelle d'un procédé de fermentation lié à un agent biopharmaceutique générique.

Bactéries d'oxydation du méthane

L'IRB poursuit ses travaux d'isolement de nouvelles bactéries d'oxydation du méthane (méthanotrophes) possédant une enzyme, MMOs, aux capacités catalytiques améliorées. La MMOs ou méthane-mono-oxygénase soluble, est l'une des deux enzymes d'oxydation du méthane

produite par les méthanotrophes. Elle offre une spécificité de substrat très étendue et peut catalyser l'oxydation d'alcanes aliphatiques et chlorés, d'alcènes et d'aromatiques chlorés ou non. Les méthanotrophes jouent un rôle important dans le cycle du carbone planétaire en se chargeant de la plus grande partie de l'oxydation biologique du méthane, empêchant ainsi l'accumulation de méthane dans l'atmosphère.

Les chercheurs en bioprocédés de l'IRB ont réalisé l'évolution dirigée de la MMOs afin de modifier/améliorer ses propriétés catalytiques. En collaboration avec le Secteur Environnement de l'Institut, ils ont étudié les effets des activités anthropiques (activités humaines) sur la libération de méthane dans l'atmosphère, comme la création de réservoirs d'énergie ou l'approvisionnement en eau. Le rôle des méthanotrophes dans l'atténuation des effets de ces activités est à l'étude.

Hydrolases et réactions de synthèse

L'IRB effectue des travaux sur l'utilisation d'enzymes hydrolytiques dans les réactions de synthèse. En la quasi-absence d'eau, les hydrolases, telles que les glucosidases, les estérases ou les protéases, peuvent catalyser des réactions de synthèse au lieu des réactions hydrolytiques. Cette propriété peut être appliquée à la production de nombreux agents chimiques spécialisés et raffinés, notamment des produits chimiques et pharmaceutiques qui respectent l'environnement.

Ces enzymes ayant évolué afin d'être actives en milieu aqueux, la conception de procédés permettant de les utiliser comme biocatalyseurs dans des milieux pratiquement dépourvus d'eau exige efforts et soins particuliers. On peut y arriver en modifiant l'enzyme même et/ou les

conditions du procédé. Les scientifiques de l'IRB continuent de recueillir des renseignements sur le comportement d'hydrolases, telles que les glucosidases et les nucléoside-hydrolases, en présence de différents solvants et dans des conditions de faible activité de l'eau. Les travaux sur l'enzyme même mobilisent les techniques d'évolution moléculaire dirigée, qui servent aussi à l'adaptation des enzymes aux conditions particulières du procédé.

Croissance et expression cellulaires par optimisation du métabolisme

Les chercheurs de l'IRB améliorent un puissant modèle métabolique leur permettant d'approfondir leurs connaissances du métabolisme central de la lignée de cellules HEK-293 (rein embryonnaire humain) appliquées à la production de protéines recombinantes. L'Institut a fait breveter les cellules HEK-293-3F6 adaptées aux milieux en suspension, sans sérum, couramment utilisés dans divers procédés à grande échelle, exploités par l'IRB pour la production de protéines recombinantes ou de vecteurs viraux à des volumes pouvant atteindre 150 litres. Une version modifiée du modèle métabolique est aussi utilisée avec les lignées de cellules d'insectes Sf-9 et High-Five^{MD}.

Le métabolisme de HEK est cependant encore peu connu et les données

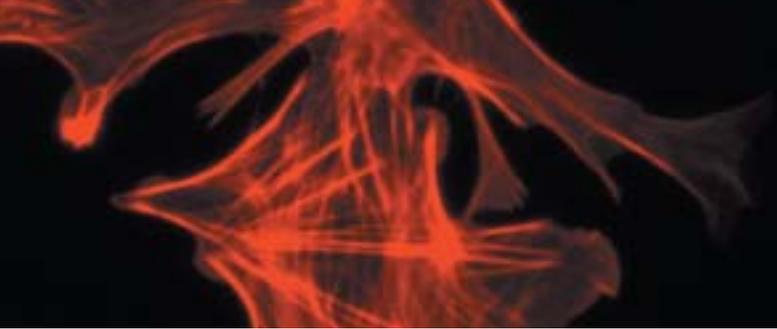
proviennent surtout du procaryote *E. coli*. Afin d'élucider ce métabolisme, les chercheurs utilisent des méthodes mathématiques, telle que « l'analyse du flux métabolique », aidant à l'identification des principaux facteurs limitants du métabolisme pendant la production de protéines et de vecteurs.

Les chercheurs ont recouru à des méthodes de génie génétique en utilisant les gènes de différentes enzymes des voies glycolytiques de HEK-293 sous forme surexprimée : la pyruvate-carboxylase, l'hexokinase, la phosphoénol-pyruvate-carboxykinase et la glutamine-synthétase. Nous avons ensuite évalué les changements en termes d'amélioration de la croissance et de l'expression des protéines. La surexpression de la pyruvate-carboxylase s'est notamment avérée bénéfique, car elle diminue la concentration cellulaire de deux toxines métaboliques, le lactate et l'ammoniaque, entraînant une amélioration de la croissance cellulaire.

Technologie de transfection à grande échelle : quand le « procédé » devient le produit

La transfection cellulaire à grande échelle est une technologie clé, développée à l'IRB au cours des deux dernières années, sous la forme d'un procédé intégré, maîtrisé par une équipe pluridisciplinaire. En partant de





l'ADN, il donne rapidement des produits à l'état pur (des protéines, notamment des cibles destinées au criblage de médicaments et aux études structurales/biochimiques et des vecteurs viraux pour l'administration de gènes aux cellules). Le volet développement de la recherche, aux confluents du génie et de la science, vise principalement l'utilisation de cellules eucaryotes, surtout les cellules de mammifères comme HEK-293 (rein embryonnaire humain).

Les milieux industriel et scientifique ont besoin, à un rythme accéléré, de grandes quantités de protéines en vue d'analyses moléculaires, de criblage de médicaments, etc. Dans le cadre d'un processus en chaîne, les clients fournissent l'ADNc (ou vecteurs), intégré dans un plasmide par l'IRB, puis ajouté à un milieu sans sérum dans lequel les cellules HEK sont en suspension. Le vecteur d'ADN pénètre les cellules en utilisant le PEI, polymère permettant une transfection transitoire (la production de cellules transfectées stables est un processus long et fastidieux). À l'échelle du laboratoire, on peut pousser le procédé jusqu'à 20 litres. L'IRB produit systématiquement des quantités de protéines de l'ordre du milligramme par litre (1 à 20) en moins de trois semaines. Le procédé, ainsi accéléré, pourrait répondre aux besoins de la recherche en pro-

téomique et des analyses de structure-fonction et on peut l'adapter à la production à haut rendement, « HTP », compte tenu de la rapidité de l'expression d'une protéine à partir de l'ADNc.

Les résultats probants obtenus à l'échelle des 20 litres permettent au laboratoire de porter le système à 100 litres. La mise à l'échelle étant une étape cruciale, les chercheurs mettent au point des instruments de monitoring en vue de l'augmentation de volume, afin de suivre le procédé, à chaque étape et en direct, par des mesures quantitatives sensibles (masse, qualité de la protéine, etc.).

La robustesse, l'économie, la rapidité de la technologie et son rendement élevé en protéines correctement transformées, repliées et modifiées en post-translation (seulement possible avec des lignées cellulaires de mammifères comme HEK) sont reconnus. L'IRB a déposé une demande de brevet pour le vecteur d'expression et le procédé.

Les chercheurs améliorent les paramètres d'exploitation, comme la densité cellulaire pendant la transfection et la formulation du milieu, afin de simplifier le processus et en améliorer le rendement général. La purification à grande échelle de protéines marquées fait aussi l'objet de recherches afin d'augmenter la production des substances visées, à meilleur coût. Une

protéine de choix pour le marquage est le *his-tag* contenant des concentrations élevées d'histidine provoquant l'adhérence de la protéine aux métaux dans une colonne de purification. Elle peut donc être utile à titre de procédé de purification simple, en une seule étape.

Une autre voie de développement de la transfection à grande échelle vise une lignée cellulaire propriété de l'IRB, 293SF-3-F6, croissant en l'absence de sérum et modifiée génétiquement afin d'en augmenter l'expression. Les milieux sans sérum sont essentiels au développement de médicaments, car les sérums animaux et humains peuvent contenir des virus et, dans le cas des sérums bovins, des prions.

Le laboratoire met au point un ensemble de systèmes d'expression qui varieront en fonction des besoins des clients en termes de rendement et de rapidité, et poursuit le raffinement de vecteurs d'ADN et l'amélioration de milieux nutritifs afin d'optimiser les rendements. À l'heure actuelle, quatre à cinq sociétés pharmaceutiques d'importance s'intéressent à la technologie.

Vecteurs viraux destinés au traitement du cancer

Les scientifiques de l'IRB ont mis au point un procédé solide et sûr, que l'on peut mettre à l'échelle pour la production d'adénovirus purifiés, utilisés lors d'expériences de transfert génétique dans les études précliniques de nos partenaires de l'extérieur. Les résultats pourraient être ensuite appliqués à la thérapie génique.

L'IRB, ainsi que l'Institut Lady Davis et l'Institut neurologique de Montréal de

l'Université McGill ainsi que d'autres universités (Montréal, Sherbrooke et Laval), fait partie du Centre de thérapie expérimentale du cancer de Montréal. Il joue un rôle de soutien dans les programmes de thérapie génique en réalisant la mise à l'échelle de vecteurs, tâche importante car l'accessibilité des vecteurs est un facteur limitant dans cette recherche. Le laboratoire utilise couramment les vecteurs à adénovirus depuis six ans et entend maintenant intégrer les AAV (virus adéno-associés) et les rétrovirus dans son arsenal. La démarche ressemble à celle qu'ont adoptée les États-Unis, où un laboratoire national de vecteurs génétiques a été créé afin de fournir aux chercheurs des vecteurs normalisés, de qualité contrôlée. Le but est de se doter des compétences et de l'expertise afin de fournir des matériaux de qualité et ce, en assurant la production des vecteurs depuis l'étape de la découverte jusqu'aux produits finaux, injectables aux animaux, dans le cadre de programmes de recherche préclinique. Tous les aspects de la production, y compris la quantification des particules virales, leur séparation et leur purification, ainsi que l'optimisation du procédé, exigent que l'on suive des protocoles rigoureux de sécurité. Le but est la production de matériel préclinique. Afin que la production de matériel clinique respecte les conditions conformes aux bonnes pratiques de fabrication, celle-ci se réalisera à la suite d'alliances avec des entreprises de fabrication en sous-traitance.



Adrien Pilon
Directeur, Secteur Environnement



LES PROGRAMMES DE RECHERCHE DU SECTEUR ENVIRONNEMENT répondent aux besoins de l'industrie canadienne et aux problématiques environnementales majeures tels que le développement durable et les changements climatiques. Notre R&D vise les principaux problèmes environnementaux tels que la qualité de l'air et de l'eau potable, la décontamination des sols et l'élimination des déchets. Notre objectif est de trouver des solutions novatrices à ces problèmes complexes.

Les chercheurs de l'IRB orientent leurs travaux vers trois principaux domaines : prévention et lutte contre la pollution, technologies de biomonitorage et procédés de bioconversion en vue d'un développement durable.

Dans le domaine de la prévention et de la lutte contre la pollution, on met davantage l'accent sur les polluants très récalcitrants tels que les composés chlorés (PCE), les HAP de masse moléculaire élevée, les composés organométalliques et les contaminants explosifs (TNT, HMX, RDX, CL-20). Nous utilisons de plus en plus la modélisation mathématique pour la description des processus et la mise au point de stratégies de décontamination. Nous utilisons un ensemble de technologies (ex. : systèmes couplés aérobies-anaérobies, techniques de phytorestauration, systèmes divers de

décontamination *in situ* des sols et des eaux souterraines par des bactéries, etc.) auxquelles nous associons l'étude de la dégradation à l'échelle métabolique chimique. On reconnaissait, récemment, les compétences uniques de l'IRB en matière d'exploration des voies de dégradation métabolique des bactéries décomposant les explosifs, et les autorités américaines ont confié à l'Institut l'étude des voies de biodégradation et de la toxicité environnementale d'un nouvel explosif.

L'IRB considère toujours le biomonitorage environnemental comme une priorité. Son vaste programme comprend l'utilisation de biopuces d'ADN pour l'analyse de la capacité des micro-organismes à dégrader les polluants, la détection de pathogènes et de produits chimiques toxiques dans le sol et les eaux, et le monitoring des impacts environnementaux de l'activité industrielle et agricole. Une autre méthode de recherche repose sur les propriétés d'impédance électrique des cellules vivantes afin de mesurer la présence de composés toxiques et d'agents cancérogènes dans l'environnement.

Le Secteur met de plus en plus l'accent sur le développement durable et la création d'une nouvelle bioéconomie, reposant d'abord sur la bioconversion des déchets en produits utiles, réduisant la pol-

lution du même coup. Cette gestion améliorée des ressources vise à protéger l'environnement en diminuant la pollution à sa source. Nous nous consacrons à des projets de recherche en vue de modifier les procédés industriels existants, telle que l'utilisation d'enzymes comme la xylanase et la cellulase afin de remplacer les produits chimiques dans le processus de blanchiment industriel des pâtes et papiers. L'IRB est partie prenante à deux propositions industrielles adressées au gouvernement fédéral-Fondation du Canada pour l'appui technologique au développement durable, disposant d'un budget de 100 millions \$.

L'an dernier, nous avons enrichi notre inventaire d'équipements en y ajoutant des CPL/SM/SM pour la caractérisation des intermédiaires métaboliques des voies de dégradation microbiennes, un spectromètre infrarouge pour la mesure en direct des bioconversions et un microscope à forces atomiques pour notre projet en nanotechnologie qui prend de l'ampleur. De plus, l'usine pilote du Secteur est accessible pour la mise à l'échelle de procédés.

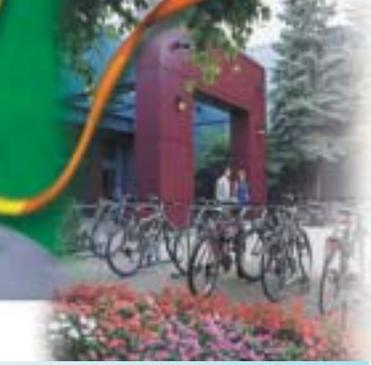
L'IRB représente le Canada au sein d'organismes internationaux préoccupés par la pollution, le réchauffement de la planète et le développement durable. L'Institut collabore avec les industries locales en cette matière et avec un nombre

important de réseaux de recherche et de développement canadiens. Au cœur de ces activités externes se trouve l'implication de l'IRB au Centre d'excellence de Montréal en réhabilitation de sites (CEMRS), visant à relever les défis de la contamination des sites urbains.

FAITS SAILLANTS

Le problème explosif des sites militaires contaminés

On a prolongé de trois à quatre ans la durée d'un projet de 1,7 million de dollars, en collaboration avec l'armée américaine en vue de la mise au point et la caractérisation de méthodes biologiques de dégradation des matières explosives. Le projet, élément du Strategic Environmental Research and Development Program (SERDP), a permis de caractériser les produits de dégradation de matériaux énergétiques tels que le TNT, l'HMX et le RDX par une enzyme bactérienne. Cette année, l'équipe de l'IRB a reçu un financement supplémentaire afin de réaliser des travaux sur un autre produit chimique énergétique, un nouvel explosif appelé CL-20, qui remplacera les explosifs plus anciens et moins puissants (HMX possède trois groupes NO₂, RDX en possède quatre et CL-20, cinq à six groupes NO₂).



Lors de l'explosion, les gaz se forment instantanément, libérant de l'énergie avec violence. Les bactéries, quant à elles, utilisent les enzymes pour libérer lentement l'énergie, dégradant ces composés en oxyde nitreux, azote, ammoniac et bioxyde de carbone.

Les sols et les eaux souterraines des sites militaires, partout dans le monde, sont contaminés par ces explosifs, à la suite de leur fabrication, de l'entraînement militaire et de la mise au rebut des munitions. Nombreux sont ces sites, au Canada et aux États-Unis, qui ont été fermés à la fin de la guerre froide et qu'on doit maintenant décontaminer en vue d'autres usages. Comme dans le cas des produits HMX, RDX, l'IRB établira en laboratoire quels micro-organismes indigènes peuvent dégrader le CL-20, quelles sont les conditions optimales de dégradation, et réalisera la mise à l'échelle du processus en vue de son utilisation sur le terrain. Le but n'est pas de modifier génétiquement des micro-organismes, mais plutôt d'isoler ceux qui dégradent naturellement le CL-20, en utilisant l'explosif comme source d'azote. L'étape suivante consistera à ajouter des nutriments (apport en carbone) aux sites contaminés afin de stimuler la croissance de ces bactéries.

Récolte saisonnière d'explosifs

Une étude de l'IRB, en collaboration avec Environnement Canada et la Défense nationale, envisage d'utiliser des plantes cultivées en série, afin de débarrasser les sites militaires de leurs contaminants explosifs, tels que le TNT, RDX et HMX. Des études pilotes, réalisées sur un ancien site d'entraînement de l'OTAN à Wainwright en Alberta, ont évalué l'efficacité de certaines plantes dans l'extraction des explosifs du sol, notamment le HMX qui, non réactif et insoluble, se retrouve près de la surface du sol. Le TNT et RDX sont plus faciles à éliminer car ils sont davantage solubles et chimiquement réactifs. Les études par modélisation mathématique prévoient que l'on brûle simplement les plantes à la fin de la saison de culture et qu'après trois à cinq cycles de culture, ce procédé aura réduit les contaminants explosifs à des niveaux inférieurs aux marges de sécurité.

Le projet a commencé par des études en serre d'Environnement Canada, au Centre canadien des eaux intérieures de Burlington en Ontario, où on crible différentes plantes pour leur capacité d'extraction des explosifs du sol. Les travaux, auxquels participe aussi Beak Consulting, a permis d'établir que les plantes possédant de grandes surfaces foliaires, telles que les

graminées (seigle et blé) offrent la meilleure absorption et le meilleur entreposage. Les racines absorbent les produits chimiques et les feuilles les entreposent, car ce sont des produits non volatils que l'eau ne peut emporter. Dans un projet connexe, les chercheurs de l'IRB travaillent en collaboration avec Cambridge University d'Angleterre à la transfection de plants de tabac par des gènes bactériens en vue d'obtenir des enzymes qui dégradent spécifiquement les explosifs.

Contaminants explosifs – Évaluer le risque environnemental

Les chimistes analytiques et les écotoxicologues de l'IRB participent à une étude internationale d'évaluation du risque regroupant le Canada, les États-Unis, l'Australie, la Nouvelle-Zélande et l'Angleterre (les pays du TTCP, The Technical Corporate Program). Reconnue à l'échelle mondiale, l'étude porte sur la caractérisation des polluants explosifs dans 20 sites canadiens. L'équipe pluridisciplinaire (chimistes, écotoxicologues, hydrogéologues) utilise du matériel portatif afin de dépister la présence des explosifs et autres produits chimiques sur les lieux. Lorsque détecté, on étudie le sort et l'impact de l'explosif, la durée de sa présence en milieu naturel, sa toxicité, sa capacité de

migration à la surface du sol jusqu'au niveau de la nappe phréatique et de destruction des plantes, animaux (lombrics) et micro-organismes.

On a récemment utilisé le protocole mis au point par l'IRB pour la caractérisation d'un site australien contaminé. Cette formule de caractérisation *in situ* détermine la quantité et la nature des explosifs présents, leur devenir et leur impact sur l'écosystème environnant. On établit quels sont les concentrations sûres de contaminants par des tests sur des algues, bactéries, végétaux et animaux du sol, tels que les lombrics. On les expose à différentes concentrations d'explosifs afin de savoir quelles sont les concentrations nocives et quelle est la nature des dégâts.



Cette recherche en évaluation du risque se poursuit depuis plus d'une décennie en collaboration avec des chercheurs universitaires, la Défense nationale du Canada et des laboratoires américains. La recherche a connu une nouvelle impulsion, il y a trois ans, quand les travaux de l'IRB ont été présentés à des réunions internationales et que les demandes pour appliquer les connaissances sur le terrain ont commencé à affluer.

Écotoxicologie : jusqu'où doit aller la propreté?

Les écotoxicologues de l'IRB ont reçu un contrat de l'armée américaine, dans le cadre du Strategic Environmental Research and Development Program (SERDP), en vue d'établir les seuils de détection de la toxicité écologique (seuils de détection scientifique de la toxicité des sols ou Eco-SSL) des sites contaminés par les explosifs. Le contrat, partagé avec une filiale de l'armée américaine, GEO-Centers Inc., a été obtenu en reconnaissance de la réputation du groupe de l'IRB et de la qualité de ses publications en écotoxicologie, notamment ses études de toxicité des contaminants explosifs dont on connaît peu les seuils de détection.

La restauration des sols par la réduction progressive des contaminants soulève toujours la question fondamentale suivante : quel est le seuil sécuritaire de contaminants sous lequel l'atténuation n'est plus nécessaire? Ou, plus simplement, jusqu'où doit aller la propreté? Les écotoxicologues répondent à cette question en évaluant les effets de la concentration de contaminants explosifs tels que TNT, RDX et HMX sur les plantes et les animaux, afin

d'établir les concentrations acceptables en termes de risque pour l'écosystème. La recherche des concentrations « acceptables » de contaminant est longue et repose sur l'accumulation de preuves provenant de nombreux tests. Les études écotoxicologiques couvrent habituellement d'immenses terrains, de longues périodes et de nombreux organismes différents vivant dans un système dynamique interrelié.

Une fois terminés, les travaux de l'IRB feront partie d'une étude encore plus vaste, entreprise par l'EPA américaine en vue d'établir les concentrations de contaminants correspondant à un risque écologique acceptable dans les sites du Department of Defense, du Department of Energy et de l'EPA (États-Unis). On pourrait ainsi réduire le nombre de sites à décontaminer, ce qui se traduirait par des économies.

Un nouvel ouvrage synthèse sur l'analyse environnementale

La maison d'édition scientifique anglaise John Wiley & Sons a publié plus tôt cette année un livre intitulé *Environmental Analysis of Contaminated Sites*, rédigé par trois chercheurs de l'IRB, Geoffrey Sunahara, Agnès Renoux et Adrien Pilon, ainsi que Claude Thellen du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (Ministère de l'Environnement du Québec) et Connie L. Gaudet de la Direction de la politique scientifique et de la qualité de l'environnement (Environnement Canada).

Le document fait le survol des épreuves d'écotoxicité appliquées à la gestion des sites contaminés, évaluant les méthodologies actuelles et illustrant les

points clés par des études de cas. Comme l'indique la synopsis, l'ouvrage vise à améliorer les communications internes dans le domaine en décrivant « le lien entre le laboratoire et les écotoxicologues de terrain, l'évaluateur du risque des sites contaminés et les différentes agences internationales de réglementation environnementale ». Il s'agit là d'un ouvrage fondamental pour les étudiants de troisième cycle, les intervenants gouvernementaux en réglementation et les firmes conseils environnementales.

La recherche en décontamination des eaux souterraines se poursuit

Les chercheurs de l'IRB poursuivent leurs travaux sur un biosystème couplé méthanogène/méthanotrophe, qui dégrade, complètement et en une seule étape, les solvants chlorés tels que le TCE (trichloroéthylène) et d'autres xénobiotiques cancérigènes. Une fois réglés certains problèmes microbiologiques, on pourra commencer le traitement d'eaux souterraines à l'échelle pilote. Le laboratoire a créé un système reposant sur un lit de particules de biomasse (environ deux à quatre mm de diamètre) contenant des méthanogènes anaérobies (conditions anaérobies) au centre et des méthanotrophes aérobies dans la partie extérieure

(conditions aérobies). Les méthanogènes internes se chargent des premières étapes de la déchloration réductrice des déchets organiques, produisant des intermédiaires que les micro-organismes aérobies extérieurs transforment en bioxyde de carbone, eau et chlorures. Les méthanogènes libèrent aussi du méthane qui peut être utilisé par les aérobies comme source d'énergie.

Le succès du biosystème couplé repose sur le fait qu'il fournit juste assez d'oxygène au biofilm bactérien pour que survivent les aérobies extérieurs, mais maintient un environnement anoxique dans la portion plus interne où vivent les anaérobies. Le groupe a fait des simulations mathématiques montrant que le système couplé aérobie/anaérobie est supérieur au système distinct aérobie et anaérobie exploité en séquence. On a aussi amélioré le système en utilisant des granules de tourbe pour l'immobilisation de consortiums bactériens et de peroxyde d'hydrogène liquide lors de l'étape d'oxygénation.

On a dû retarder l'utilisation du système couplé dans la décontamination des eaux souterraines à l'échelle pilote, car on a découvert que les populations de bactéries méthanotrophes déclinaient constamment au cours d'une période de plusieurs mois perdant leur capacité de dégradation des





composés chlorés cibles. Des recherches sont en cours afin de comprendre ce qui se passe et trouver les conditions optimales de conservation des bactéries méthanotrophes.

Des bactéries purifient les aquifères en respirant les nitrates

Les experts de l'IRB en méthodes biologiques de décontamination apportent la touche finale à un procédé d'élimination des nitrates présents dans les aquifères. Les nitrates présents dans les eaux présentent un risque pour la santé, notamment celle des enfants. Le projet conjoint CNRC-Défense nationale, a été lancé il y a plus de cinq ans afin de résoudre le problème des concentrations élevées de nitrates dans les aquifères situés près des aéroports, nitrates provenant de l'utilisation de l'urée pour le déglacage des avions dans le passé. L'urée se transforme rapidement en ammoniac, puis en nitrites et en nitrates persistant dans les aquifères. Les concentrations de nitrates autour des aéroports comme ceux de Bagotville au Québec sont cinq fois plus élevées que celles des terrains ordinaires. Bien que le sol et les eaux abritent des bactéries dénitrifiantes, les conditions naturelles ne favorisent pas leur croissance, car on y trouve trop d'oxygène et pas assez de carbone. Ces

bactéries anaérobies réduisent les nitrates en azote gazeux (elles utilisent les nitrates comme accepteurs d'électrons plutôt que donneurs d'énergie, de la même façon que les micro-organismes aérobies utilisent l'oxygène comme accepteur d'électrons).

Les chercheurs de l'IRB ont caractérisé le biosystème par modélisation et mis au point un protocole utilisant l'éthanol qui permet de réduire la concentration d'oxygène dans le sol (à cause de son potentiel oxydo-réducteur) tout en fournissant du carbone (énergie) aux micro-organismes. On n'a pas eu à ajouter de bactéries dénitrifiantes, celles-ci étant présentes normalement dans les sols et les eaux, mais incapables de croître dans des concentrations d'oxygène élevées. Le modèle du laboratoire a permis d'établir à quel endroit on devait localiser les différents puits d'injection de l'éthanol et d'extraction d'échantillons aux fins d'analyse. Les chercheurs ont utilisé une remorque équipée de pompes, de sondes, d'ordinateurs et de connexions en ligne pour la transmission rapide des données au laboratoire. Le procédé est en instance de brevet et il a permis la décontamination efficace des nitrates présents dans les eaux souterraines près de Baie-Comeau.

Technologies génomiques : avenir de la microbiologie environnementale

Les chercheurs de l'IRB en microbiologie et génétique environnementale ont réalisé des progrès remarquables dans le développement de technologies de surveillance des populations microbiennes et de leurs caractéristiques fonctionnelles en se fondant sur le pouvoir de discrimination des biopuces d'ADN. Ces travaux sont à l'avant-garde de l'application des biopuces aux problématiques environnementales, fait reconnu par la revue de l'American Chemical Society, *Environmental Science and Technology*, qui a invité l'IRB à soumettre un article sur « les technologies génomiques en sciences environnementales ». L'article met en relief les applications actuelles des méthodes génomiques aux problèmes environnementaux, notamment l'utilisation des biopuces et des puces génétiques pour l'analyse de la dégradation des contaminants par les micro-organismes, la détection des pathogènes et des produits chimiques toxiques et le monitoring des impacts environnementaux de l'industrie et de l'agriculture.

Le document se veut le reflet des activités du groupe de microbiologie environnementale en collaboration avec le groupe de Génétique environnementale du

Secteur ainsi que le programme Strategic Technologies Application of Genomics in the Environment (STAGE) d'Environnement Canada et les programmes de l'Environmental Management of Biotechnology Regulation and Research (EMBRR). La recherche du groupe de Génétique environnementale suit dans le texte.

La recherche vise à développer et à appliquer les biopuces d'ADN au monitoring de populations entières de bactéries (taxonomie) ainsi que des activités fonctionnelles microbiennes liées à la dégradation des contaminants et aux cycles naturels. Cette méthodologie « métagénomique » sera mise à profit dans le monitoring des effluents aqueux afin de vérifier la présence de micro-organismes pathogènes, l'évaluation des effets de la contamination sur la diversité microbienne et l'évolution de cette dernière au fur et à mesure que l'on décontamine un site.

Un objectif important est de réaliser le biomonitorage par biopuces et à haut rendement, les résultats pouvant augmenter considérablement nos connaissances de l'impact environnemental des activités humaines.

Bien que la technologie soit encore au stade de développement, les chercheurs ont déjà entrepris d'appliquer les méthodes génomiques aux problèmes environ-



nementaux. Ils participent à deux projets des RCE, l'un lié à la génomique et au développement durable (en instance) et un autre à la gestion des eaux (accordé), ainsi qu'à une application de l'Initiative en génomique et en santé du CNRC. Ce dernier programme, une collaboration entre divers instituts du CNRC, investit les fonds dans le développement et la validation d'épreuves à base de biopuces pour le monitoring environnemental et l'établissement de profils de communautés microbiennes.

Les biopuces sont aussi utilisées dans les études de biorestauration *in situ* dans l'Arctique canadien (île d'Ellesmere) et dans l'Antarctique relativement au potentiel de dégradation des contaminants par les micro-organismes. D'autres travaux portent sur l'étude du fondement génétique de la dégradation des hydrocarbures par de nombreuses espèces de *Rhodococcus* en collaboration avec l'Institut suisse de biotechnologie (première voie de dégradation ainsi élucidée chez des bactéries à Gram positif). Une autre étude, « Exobiological Investigations of Perennial Springs in the Canadian High Arctic », est financée depuis plus de trois ans par le programme Exobiology de la NASA afin d'examiner la biodiversité microbienne propre aux écosystèmes de l'Arctique canadien.

Biofilms microbiens, mares de goudrons de Sydney, biorestauration des marécages

Le groupe de Microbiologie environnementale participe depuis trois ans à deux vastes projets dans le cadre de l'Initiative de recherche sur les substances toxiques gérée par Santé Canada.

Le premier projet, en collaboration avec l'Institut national de recherche sur les eaux d'Environnement Canada, examine l'effet des concentrations de toxines, de nutriments et d'oxygène dissout sur la capacité des biofilms naturels de séquestrer et/ou dégrader certains métaux lourds, toxines et substances mystérieuses tels que les agents de perturbation endocrinienne (« EDC »). Les travaux fournissent des renseignements précieux en vue de régler la libération de matières industrielles et agricoles dans les écosystèmes naturels. Ils permettront aussi de mesurer l'influence, à long terme, de tels stress sur les chaînes alimentaires microbiennes, leurs effets sur l'écosystème étant cumulatifs.

Le second projet étudie les effets cumulatifs des substances toxiques du port de Sydney en Nouvelle-Écosse, substances provenant principalement des mares de goudron. On établit d'abord l'état actuel de l'environnement portuaire pour surveiller ensuite l'effet des opérations de restaura-

tion proposées sur le rétablissement de l'écosystème. L'IRB collabore avec Pêches et Océans Canada, l'Institut océanographique de Bedford, Environnement Canada et Trent University dans ces travaux. Le rôle de l'IRB est de quantifier et caractériser les populations microbiennes présentes dans les sédiments portuaires et d'établir les changements de composition et d'activité métabolique de la population microbienne dans le temps. L'Institut développe également des instruments d'évaluation du potentiel et de l'activité de dégradation microbienne afin de caractériser et de suivre les impacts environnementaux de la contamination et de la restauration de l'écosystème.

L'IRB continue ses recherches sur les déversements d'huile maîtrisés, réalisés sur une plage d'eau douce du Québec (fleuve Saint-Laurent) et des marais salés intertidaux de la Nouvelle-Écosse afin d'évaluer la réaction et le rétablissement de l'habitat à long terme. Les chercheurs examinent les impacts du déversement, se concentrant sur la réaction microbienne de dégradation des hydrocarbures pétroliers et la façon dont les populations microbiennes évoluent, en réponse à la pollution même, aux différents traitements alimentaires et autres traitements visant à améliorer la restauration des sites.

Même si les deux habitats ont d'abord présenté des réactions d'intoxication, l'activité de dégradation du pétrole par les microbes a augmenté de façon remarquable, la réduction de la toxicité et la restauration de l'habitat étant manifestes la première année déjà. L'apport de fertilisants s'est avéré une contre-mesure efficace au déversement pétrolier.

Les études sont réalisées en collaboration avec Pêches et Océans Canada, l'EPA des États-Unis et de nombreuses universités canadiennes et américaines.

LA VIE ÉLECTRISANTE DES CELLULES

Les spécialistes de capteurs biologiques ultra-petits ont développé un instrument puissant d'observation du comportement des cellules vivantes, offrant des applications comme le monitoring des contaminants environnementaux et des pathogènes alimentaires jusqu'à la mesure de composés prototypes contre des maladies tel que le cancer. La technique pourrait enfin offrir une alternative efficace à l'utilisation des animaux en recherche.

Le « captage de l'impédance électrique cellule-substrat » (« ECIS ») permet de mesurer la mobilité des cellules vivantes fixées à une minuscule électrode en or (diamètre de 250 microns) recouverte de

molécules comme la fibronectine, protéine de la matrice extracellulaire des tissus. Les cellules animales et humaines adhèrent facilement à cette matrice par des intégrines, protéines d'adhérence présentes dans la membrane plasmique, et couvrent rapidement l'électrode en formant une couche isolante. Comme les cellules de mammifères ont un diamètre d'environ 20 à 25 microns, quelque 40 à 50 cellules peuvent vivre sur une électrode. L'effet isolant, mesuré sous forme d'impédance dans un système C.A., fluctue continuellement en raison de la mobilité cellulaire (capacité de mouvement, changement de forme).

C'est ainsi que toute substance pouvant influencer la viabilité des cellules fixées – toxines, métaux lourds, inhibiteurs de croissance, stimulateurs de croissance – influencera les fluctuations d'impédance, ce que l'on peut mesurer rapidement, en moins de 20 minutes. Les chercheurs peuvent utiliser la technique ECIS pour réaliser des essais d'inhibition cellulaire correspondant à l'effet des concentrations de métaux lourds et de toxines (tels que les agents chimiques de guerre) sur la santé de la cellule. On peut aussi l'utiliser dans l'évaluation de l'efficacité des agents utilisés pour contrer ces effets, le tout en moins de 20 minutes (au lieu de plusieurs jours par les techniques actuelles).

On peut évaluer l'effet des médicaments anticancéreux sur les cellules cancéreuses et, compte tenu de la petitesse des électrodes et de leur facilité de fabrication, on peut obtenir des systèmes de biopuces pour les analyses multicanaux simultanées, préalables au traitement HTS des banques de composés.

À l'avenir, le groupe de l'IRB a l'intention de miniaturiser encore davantage l'électrode en la faisant passer de 250 à 20 microns, ce qui permettrait d'observer une seule cellule humaine sur la pointe de l'électrode. Comme on pourra obtenir des résultats en quelques minutes, les chercheurs pourront suivre en temps réel le comportement des cellules exposées à différents stimuli. L'astuce sera de réussir à fixer la cellule choisie à l'électrode, manœuvre qui dépendra de la spécificité offerte par les molécules d'intégrine présentes à la surface de cette cellule. On sait, par exemple, que les cellules cancéreuses expriment des intégrines très spécifiques que l'on ne retrouve pas dans les cellules normales. Une autre application biologique est l'évaluation d'agents antiviraux potentiels en monitorant l'infection virale d'une cellule unique qui éclate à la fin du processus tout en envoyant un signal.

DES NANOSONDES DANS LES CELLULES VIVANTES

Les chercheurs de l'IRB utilisent des techniques de nanofabrication afin de mettre au point des biocapteurs dont les surfaces de captage ont un diamètre inférieur à 200 nanomètres et permettent des mesures en temps réel. Ces électrodes présentent des pointes de platine dont le diamètre est 100 fois inférieur à celui d'une cellule de mammifère. Elles sont si petites (on a l'intention de les réduire jusqu'à 20 nanomètres) qu'on peut les introduire dans les cellules vivantes pour la mesure de processus métaboliques vitaux. La méthodologie consiste à déposer sur l'électrode des protéines comme des anticorps, des enzymes ou d'autres molécules bioactives qui interagissent avec le métabolisme interne de la cellule. Ces interactions se traduisent par des fluctuations de courant (sensibilité de l'ordre du picoampère). Par exemple, en utilisant la glucose-oxydase sur l'électrode (enzyme de dégradation du glucose) on obtient un capteur en temps réel des concentrations de glucose dans la cellule et d'autres systèmes biologiques. Les chercheurs visent à établir des relations entre les biomarqueurs et les processus métaboliques internes de la cellule. Le système se prête très bien à la méthodologie des nanoma-

trices appliquée au criblage à haut rendement de médicaments.

RATISSER LES PATHOGÈNES ENVIRONNEMENTAUX

Les chercheurs de l'IRB en Génétique environnementale ont développé une technique rapide, facile, de biopuces d'ADN pour l'identification des souches de la bactérie *E. coli*. La technique consiste à regrouper les quelque 100 gènes de virulence de la bactérie, abondante dans l'environnement (y compris les intestins d'animaux et d'humains). Certaines souches d'*E. coli* sont très pathogènes et provoquent des infections comme la maladie du hamburger et l'éclosion d'infections d'origine hydrique (Walkerton en Ontario). À Walkerton, la souche 0157A7 d'*E. coli* a été la cause de nombreux décès.

La recherche se fait en collaboration avec le Réseau de recherche sur les pathogènes du porc (CNRSG) de l'Université de Montréal. La spécificité des biopuces dépend de la présence de gènes d'enzymes participant à la biosynthèse des toxines hémolytiques produites par certaines souches bactériennes. Comme la technique permet d'identifier les sérotypes bactériens par le dépistage d'enzymes de synthèse de glucides spécifiques, on évite de recourir aux tests immunologiques fastidieux.

Les biopuces facilitent donc le travail des chercheurs dans le dépistage rapide de la présence d'*E. coli* pathogène ainsi que de l'identification de la souche. Il existe de nombreuses souches pathogènes, certaines responsables des infections des voies urinaires, de diarrhées diverses et de maladies graves, tels que le syndrome hémolytique urémique et la méningite. Le groupe a déposé une demande de brevet provisoire et est à la recherche de partenaires industriels en vue du développement de la technique.

L'UNIVERS DANS UNE GOUTTE D'EAU

De nos jours, la pollution de l'eau se mesure surtout en monitorant les organismes liés à des agents pathogènes, tels que les coliformes fécaux, plutôt que les micro-organismes vraiment responsables des maladies. L'utilisation de tels indicateurs de la qualité de l'eau n'offrent pas toujours une protection complète contre la maladie, mais elle est généralement très efficace.

Afin d'améliorer la protection de la population, les chercheurs de l'IRB ont commencé à travailler à des tests permettant de mesurer la présence de centaines de micro-organismes pathologiques différents, en une seule opération et dans une seule goutte d'eau. L'idée est d'utiliser des micromatrices recouvertes de séquences pathogènes (dérivées de Genbank) associées aux mêmes séquences sous forme de sondes PCR dans les échantillons d'eau à mesurer. Les sondes devraient amplifier les séquences spécifiques aux pathogènes déterminés que l'on détecterait ensuite par des biopuces. On pourrait même produire

des sondes génériques dépistant des familles entières de pathogènes, l'avantage étant de détecter, du même coup, des pathogènes inconnus. Cette méthode d'exploration en parallèle pourrait détecter jusqu'à 500 pathogènes différents à la fois (pathogènes cellulaires, bactériens et viraux). La méthode serait beaucoup moins coûteuse et plus rapide que les méthodes individuelles, utilisées à l'heure actuelle pour le dépistage de pathogènes uniques, et contournerait les problèmes de cultures bactériennes et virales.

ÉTENDRE LA TOXICITÉ DU *Bt*

L'IRB, en collaboration avec une société québécoise et Forêts Canada, améliore les toxines insecticides du *Bt*, utilisées surtout dans la lutte contre l'infestation des forêts par des insectes comme la tordeuse des bourgeons de l'épinette. On veut rendre ces toxines plus résistantes à la digestion intestinale par les insectes cibles. On entend y parvenir en réalisant des mutations ciblées des sites sensibles de la molécule auxquels s'attaquent les enzymes digestives, telles que la trypsine et la chymotrypsine, qui dégradent cette protéine. On vise à améliorer la stabilité de la toxine augmentant ainsi sa toxicité.

À l'heure actuelle, on cherche des usages de l'insecticide en agriculture, car la population s'oppose aux végétaux transgéniques et, de plus en plus, à l'utilisation des pesticides chimiques. Le *Bt* pourrait aussi servir à la lutte contre les insectes piqueurs comme les moustiques et les mouches noires. Ces développements reposeront sur l'isolement de variants naturels plutôt que sur la modification

génétique de micro-organismes, car il est relativement facile de faire breveter les variants naturels.

BIOCONVERSION ET DÉVELOPPEMENT DURABLE

Les spécialistes de la technologie génomique et des voies cataboliques de l'IRB examinent la biodégradation « contrôlée » et de nouvelles méthodes de création de valeur utilisant des micro-organismes afin de convertir les déchets et d'autres matières organiques en produits utiles. Ils visent à transformer les matières organiques en polymères de valeur, en produits chimiques spécialisés et en composés chiraux, en utilisant des systèmes bactériens, fongiques et enzymatiques non cellulaires. La méthode est moins coûteuse, elle est source de produits nou-

veaux et elle est compatible avec le développement durable. Elle ajoute en effet de la valeur à des matières normalement mises au rebut et elle est écologique car elle réduit les concentrations de déchets industriels.

Les intérêts actuels du groupe portent sur la bioconversion des hydrocarbures et leur revalorisation biologique, liées notamment au secteur de l'énergie et à l'industrie chimique.

BIOCONVERSION DES HYDROCARBURES

Les chercheurs de l'IRB étudient les oxygénases, enzymes de fixation d'atomes d'oxygène aux composés organiques, les mono-oxygénases ajoutant un seul atome et les dioxygénases, deux. Ces enzymes ajoutent de nouvelles fonctionnalités aux





composés et jouent un rôle clé dans la dégradation et le recyclage des matières organiques. À titre d'exemple, le groupe est à étudier la dégradation oxydative du *p*-cymène (isopropyltoluène), composé que l'on retrouve dans les huiles volatiles végétales et constituant des effluents de la fabrication des pâtes. Les travaux de l'IRB sur la spécificité du substrat de la *p*-cymène-mono-oxygénase qui catalyse l'étape initiale de la dégradation du *p*-cymène chez un micro-organisme du sol, ont permis de révéler son potentiel d'oxydation du 4-chlorostyrène en époxyde de 4-chlorostyrène. Ce dernier composé pourrait servir d'agent synthétique bifonctionnel dans l'industrie chimique.

À l'heure actuelle, le groupe explore la possibilité de modifier la *p*-cymène-

mono-oxygénase afin d'en modifier la spécificité spatiale, augmentant ainsi sa puissance biocatalytique en vue de la revalorisation des déchets. Une recherche plus poussée de la voie de dégradation du *p*-cymène a permis le réassemblage de gènes à quatre sous-unités codant la *p*-cumate-dioxygénase, enzyme de conversion du *p*-cumate en un acide *cis*-diol, composé chiral intermédiaire. L'idée est de bloquer intentionnellement la dégradation (dégradation « contrôlée ») à l'étape de cet intermédiaire et de l'accumuler comme un produit. Les diols chiraux sont des éléments précieux de synthèse de produits dans les industries chimique et pharmaceutique. Ce volet de la recherche est réalisé en collaboration avec University of Florida.

Les chercheurs étudient aussi un groupe d'oxygénases appelées mono-oxygénases de Baeyer-Villiger (MOBV). Les réactions de Baeyer-Villiger sont utilisées en industrie depuis plus d'un siècle pour l'oxydation des cétones en lactones ou en esters à des fins diverses, de la fabrication des plastiques jusqu'aux synthèses pharmaceutiques. L'inconvénient de la réaction, abiotique, est qu'elle produit plus de déchets acides que de produits intéressants, inconvénient que ne présentent pas les processus enzymatiques. Il existerait toute une variété de MOBV produites par des microbes, enzymes capables de sélectivité énantiomère élevée agissant sur de nombreuses cétones. Les MOBV peuvent aussi catalyser d'autres réactions (sulfoxydation, phospho-oxydation). L'IRB et ses collaborateurs japonais (Kansai University d'Osaka) sont la principale source de MOBV clonées ainsi que d'hydrolases et d'oxydo-réductases liées aux voies de dégradation des composés cycloparaffiniques.

REVALORISATION BIOLOGIQUE

Dans le cadre du programme STAGE (Strategic Technologies Application of Genomics in the Environment) d'Environnement Canada, les chercheurs de l'IRB ont réalisé une première, en établissant la séquence complète du plasmide de biodésulfuration d'un microbe. La biodésulfuration est l'utilisation de microbes afin d'éliminer spécifiquement le soufre présent dans le pétrole brut et les effluents de raffinerie. On examine à l'heure actuelle le nouveau potentiel biocatalytique offert par les données génomiques.

Les chercheurs examinent aussi des façons d'ouvrir les composés aromatiques et cycloparaffiniques des carburants, dont la combustion est mauvaise, l'ouverture des noyaux permettant d'augmenter l'indice de cétane, mesure de la qualité de l'ignition. Ces travaux sont importants, les critères de qualité des carburants devenant de plus en plus rigoureux.

L'UTILITÉ DES ÉLÉMENTS DE CONTRÔLE GÉNÉTIQUE

Dans un autre projet, les chercheurs ont développé un biocapteur polyvalent pour le monitoring des contaminants environnementaux. Il s'agit d'un biocapteur à base de chromosomes pour la surveillance des contaminants ordinaires des eaux souterraines comme les BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène et xylène) et de nombreux autres composés aromatiques. Une cassette de gène luminescent (luxCDABE) a été mise sous la commande d'un système génétique de pompe d'efflux des solvants chez *Pseudomonas putida* F1.

Comme les gènes de la pompe d'efflux sont activés en présence des contaminants, les gènes luminescents « s'allument » servant alors de méthode de détection. À ce jour, les biocapteurs mis au point pour la détection de composés organiques reposent tous sur la fusion avec des promoteurs provenant de voies cataboliques particulières. La nouvelle souche recombinante représente une seconde génération de biocapteurs ne dépendant pas d'un promoteur catabolique, mais que les contaminants peuvent cependant induire.

Bell, A.W., Ward, M.A., Blackstock, W.P., Freeman, H.N., Choudhary, J.S., Lewis, A.P., Chotai, D., Fazel, A., Gushue, J.N., Paiement, J., Palcy, S., Chevet, E., Lafreniere-Roula, M., Solari, R., Thomas, D.Y., Rowley, A., Bergeron, J.J. (2001) Proteomics characterization of abundant Golgi membrane proteins. *J. Biol. Chem.* 276(7): 5152-5165. NRC 44780.

Bhattacharjya, S., Xu, P., Xiang, H., Chretien, M., Seidah, N.G., Ni, F. (2001) pH-Induced conformational transitions of a molten-globule-like state of the inhibitory prodomain of furin: Implications for zymogen activation. *Protein Sci.* 10(5): 934-942. NRC 42998.

Blobe, G.C., Schiemann, W.P., Pepin, M.C., Beauchemin, M., Moustakas, A., Lodish, H.F., O'Connor-McCourt, M. (2001) Functional roles for the cytoplasmic domain of the type III transforming growth factor beta receptor in regulating transforming growth factor beta signaling. *J. Biol. Chem.* 276(27): 24627-24637. NRC 44810.

Campeau, P., Chapdelaine, P., Seigneurin-Venin, S., Massie, B., Tremblay, J. (2001) Transfection of large plasmids in primary human myoblasts. *Gene Ther.* 8(18): 1387-1394. NRC 44819.

De Crescenzo, G., Grothe, S., Zwaagstra, J., Tsang, M., O'Connor-McCourt, M.D. (2001) Real-time monitoring of the interactions of transforming growth factor-beta (TGF-beta) isoforms with latency-associated protein and the ectodomains of the TGF-beta type II and III receptors reveals different kinetic models and stoichiometries of binding. *J. Biol. Chem.* 276(32): 29632-29643. NRC 44825.

Dickson, K.M., Bergeron, J.J.M., Philip, A., O'Connor-McCourt, M., Warshawsky, H. (2001) Localization of specific binding sites for 125I-TGF-β1 to fenestrated endothelium in bone and anastomosing capillary networks in enamel organ suggests a role for TGF-β1 in angiogenesis. *Calcified Tissue Int.* 68: 304-315. NRC 44807.

Gagnon, C.A., Langelier, Y., Massie, B., Dea, S. (2001) Biochemical properties and processing of the three major structural proteins of PRRS virus expressed by recombinant adenoviruses. Structural, functional and community aspects. *Adv. Exp. Med. Biol.* 494: 225-231. NRC 44820.

Gilbert, R., Nalbantoglu, J., Howell, J.M., Davies, L., Fletcher, S., Amalfitano, A., Petrof, B.J., Kamen, A., Massie, B., Karpati, G. (2001) Dystrophin expression in muscle following gene transfer with a fully deleted ("guttled") adenovirus is markedly improved by trans-acting adenoviral gene products. *Hum. Gene Ther.* 12(14): 1741-1755. NRC 44818.

Huang, W., Boju, L., Tkalec, L., Su, H., Yang, H.O., Gunay, N.S., Linhardt, R.J., Kim, Y.S., Matte, A., Cygler, M. (2001) Active site of chondroitin AC lyase revealed by the structure of enzyme-oligosaccharide complexes and mutagenesis. *Biochemistry* 40(8): 2359-2372. NRC 44776.

Jakob, C.A., Chevet, E., Thomas, D.Y., Bergeron, J.J. (2001) Lectins of the ER quality control machinery. *Results Probl. Cell Differ.* 33: 1-17. NRC 44779.

Jaramillo, M.L., Mousseau, D.D., Slon-Usakiewicz, J., Banville, D., Shen, S.H. (2001) SHPS-1 associates with the p85, the regulatory subunit of phosphatidylinositol 3'-kinase, upon tyrosine phosphorylation. *LifeXY* 1: 1068-1074. NRC 44801.

Jia, J., Tarabykina, S., Hansen, C., Berchtold, M., Cygler, M. (2001) Structure of apoptosis-linked protein ALG-2: Insights into Ca²⁺-induced changes in penta-EF-hand proteins. *Structure* 9(4): 267-275. NRC 44828.

Jia, J., Borregaard, N., Lollike, K., Cygler, M. (2001) Structure of Ca(2+)-loaded human grancalcin. *Acta Crystallogr. D.* 57(12): 1843-1849. NRC 44827.

Jiang, L.H., Whiteway, M., Shen, S.H. (2001) A novel type 2C protein phosphatase from the human fungal pathogen *Candida albicans*. *FEBS Lett.* 509(1): 142-144. NRC 44803.

Khaleghpour, K., Kahvejian, A., De Crescenzo, G., Roy, G., Svitkin, Y.V., Imataka, H., O'Connor-McCourt, M., Sonenberg, N. (2001) Dual interactions of the translational repressor Paip2 with poly(A) binding protein. *Mol. Cell. Biol.* 21(15): 5200-5213. NRC 44823.

Kozlov, G., Trempe, J.F., Khaleghpour, K., Kahvejian, A., Ekiel, I., Gehring, K. (2001) Structure and function of the C-terminal PABC domain of human poly(A)-binding protein. *P. Natl Acad. Sci. USA* 98(8): 4409-4413. NRC 43000.

Leberer, E., Harcus, D., Dignard, D., Johnson, L., Ushinsky, S., Thomas, D.Y., Schroppel, K. (2001) Ras links cellular morphogenesis to virulence by regulation of the MAP kinase and cAMP signalling pathways in the pathogenic fungus *Candida albicans*. *Mol. Microbiol.* 42(3): 673-676. NRC 42961.

Lima, A.P., dos Reis, F.C., Serveau, C., Lalmanach, G., Juliano, L., Menard, R., Vernet, T., Thomas, D.Y., Storer, A.C., Scharfstein, J. (2001) Cysteine protease isoforms from *Trypanosoma cruzi*, cruzipain 2 and cruzain, present different substrate preference and susceptibility to inhibitors. *Mol. Biochem. Parasit.* 114(1): 41-52. NRC 42999.

Lin, L.Y.C., Sulea, T., Szittner, R., Vassilyev, V., Purisima, E.O., Meighen, E.A. (2001) Modeling of the bacterial luciferase-flavin mononucleotide complex combining flexible docking with structure-activity data. *Protein Sci.* 10(8): 1563-1571. NRC 44786.

Menard, R., Therrien, C., Lachance, P., Sulea, T., Qi, H., Alvarez-Hernandez, A., Roush, W.R. (2001) Cathepsins X and B display distinct activity profiles that can be exploited for inhibitor design. *Biol. Chem.* 382(5): 839-845. NRC 42971.

Mouchantaf, R., Kumar, U., Sulea, T., Patel, Y.C. (2001) A conserved alpha-helix at the amino terminus of prosomatostatin serves as a sorting signal for the regulated secretory pathway. *J. Biol. Chem.* 276(28): 26308-26316. NRC 44785.

Moulin, V., Tam, B.Y., Castilloux, G., Auger, F.A., O'Connor-McCourt, M.D., Philip, A., Germain, L. (2001) Fetal and adult human skin fibroblasts display intrinsic differences in contractile capacity. *J. Cell. Physiol.* 188(2): 211-222. NRC 44824.

Mounier, C., Lavoie, L., Dumas, V., Mohammad-Ali, K., Wu, J., Nantel, A., Bergeron, J.J., Thomas, D.Y., Posner, B.I. (2001) Specific inhibition by hGRB10zeta of insulin-induced glycogen synthase activation: Evidence for a novel signaling pathway. *Mol. Cell. Endocrinol.* 173(1-2): 15-27. NRC 44778.

Nakagawa, S., Massie, B., Hawley, R.G. (2001) Tetracycline-regulatable adenovirus vectors: pharmacologic properties and clinical potential. *Eur. J. Pharm. Sci.* 13(1): 53-60. NRC 42993.

Nomizu, M., Pietrzynski, G., Kato, T., Lachance, P., Menard, R., Ziomek, E. (2001) Substrate specificity of the streptococcal cysteine protease. *J. Biol. Chem.* 276(48): 44551-44556. NRC 44792.



Prasain, J.K., Stefanowicz, P., Kiyota, T., Habeichi, F., Konishi, Y. (2001) Taxines from the needles of *Taxus wallichiana*. *Phytochemistry* 58(8): 1167-1170. NRC 44790.

Quraishi, O., Storer, A.C. (2001) Identification of internal autoproteolytic cleavage sites within the prosegments of recombinant procathepsin B and procathepsin S. Contribution of a Plausible Unimolecular Autoproteolytic Event for the Processing of Zymogens Belonging to the Papain Family. *J. Biol. Chem.* 276(11): 8118-8124. NRC 42997.

Rocha, C.R.C., Schroppel, K., Harcus, D., Marcil, A., Dignard, D., Taylor, B.N., Thomas, D.Y., Whiteway, M., Leberer, E. (2001) Signaling through adenyl cyclase is essential for hyphal growth and virulence in the pathogenic fungus *Candida albicans*. *Mol. Biol. Cell* 12(11): 3631-3643. NRC 44794.

Schmidt, A., Sivaraman, J., Li, Y., Larocque, R., Barbosa, J.A., Smith, C., Matte, A., Schrag, J.D., Cygler, M. (2001) Three-dimensional structure of 2-amino-3-ketobutyrate CoA ligase from *Escherichia coli* complexed with a PLP-substrate intermediate: Inferred reaction mechanism. *Biochemistry* 40(17): 5151-5160. NRC 44777.

Schrag, J.D., Huang, W., Sivaraman, J., Smith, C., Plamondon, J., Larocque, R., Matte, A., Cygler, M. (2001) The crystal structure of *Escherichia coli* MoeA, a protein from the molybdopterine synthesis pathway. *J. Mol. Biol.* 310(2): 419-431. NRC 44815.

Schrag, J.D., Bergeron, J.J.M., Li, Y.G., Borisova, S., Hahn, M., Thomas, D.Y., Cygler, M. (2001) The structure of calnexin, an ER chaperone involved in quality control of protein folding. *Mol. Cell* 8(3): 633-644. NRC 44806.

Schroppel, K., Kryk, M., Herrmann, M., Leberer, E., Rollingshoff, M., Bogdan, C. (2001) Suppression of type 2 NO-synthase activity in macrophages by *Candida albicans*. *Int. J. Med. Microbiol.* 290(8): 659-668. NRC 44783.

Sivaraman, J., Li, Y., Plamondon, J., Larocque, R., Raymond, S., Sauvé, V., Smith, C., Boju, L., Schrag, J.D., Matte, A., Gaasterland, T., Cygler, M. (2001) A structural genomics pilot project based on gene targets selected from *Escherichia coli*. *J. Cryst. Growth* 232: 421-425. NRC 44826.

Sivaraman, J., Li, Y., Larocque, R., Schrag, J.D., Cygler, M., Matte, A. (2001) Crystal structure of histidinol phosphate aminotransferase (HisC) from *Escherichia coli*, and its covalent complex with pyridoxal-5'-phosphate and L-histidinol phosphate. *J. Mol. Biol.* 311(4): 761-776. NRC 44814.

Song, J., Chen, Z., Xu, P., Gingras, R., Ng, A., Leberer, E., Thomas, D.Y., Ni, F. (2001) Molecular interactions of the Gbeta binding domain of the Ste20p/PAK family of protein kinases. An isolated but fully functional Gbeta binding domain from Ste20p is only partially folded as shown by heteronuclear NMR spectroscopy. *J. Biol. Chem.* 276(44): 41205-41212. NRC 44816.

Stefanowicz, P., Prasain, J.K., Yeboah, K.F., Konishi, Y. (2001) Detection and partial structure elucidation of basic taxoids from *Taxus wallichiana* by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 73(15): 3583-3589. NRC 44809.

Sulea, T., Purisima, E.O. (2001) Optimizing ligand charges for maximum binding affinity. A solvated interaction energy approach. *J. Phys. Chem. B* 105(4): 889-899. NRC 42966.

Szewczuk, Z., Konishi, Y., Goto, Y. (2001) A two-process model describes the hydrogen exchange behavior of cytochrome c in the molten globule state with various extents of acetylation. *Biochemistry* 40(32): 9623-9630. NRC 44789.

Tanha, J., Xu, P., Chen, Z., Ni, F., Kaplan, H., Narang, S.A., MacKenzie, C.R. (2001) Optimal design features of camelized human single-domain antibody libraries. *J. Biol. Chem.* 276(27): 24774-24780. NRC 42431.

Tessier, D., Thomas, D.Y., Brousseau, R. (2001) A DNA microarrays fabrication strategy for research laboratories. *Biotechnology* (9): 228-237. NRC 42991.

Therrien, C., Lachance, P., Sulea, T., Purisima, E.O., Qi, H., Ziomek, E., Alvarez-Hernandez, A., Roush, W.R., Menard, R. (2001) Cathepsins X and B can be differentiated through their respective mono- and dipeptidyl carboxypeptidase activities. *Biochemistry* 40(9): 2702-2711. NRC 42969.

Tolkatchev, D., Xu, P., Ni, F. (2001) A peptide derived from the C-terminal part of a plant cysteine protease folds into a stack of two beta-hairpins, a scaffold present in the emerging family of granulin-like growth factors. *J. Pept. Res.* 57(3): 227-233. NRC 42970.

Xu, Y., Banville, D., Zhao, H.-F., Zhao, X., Shen, S.H. (2001) Transcriptional activity of the SHP-1 gene in MCF7 cells is differentially regulated by binding of NF-Y factor to two distinct CCAAT-elements. *Gene* 269: 141-153. NRC 44812.

Yu, Z., Lai, C.-M., Maoui, M., Banville, D., Shen, S.H. (2001) Identification and characterization of S2V, a novel putative siglec that contains two V set Ig-like domains and recruits protein-tyrosine phosphatases SHPs. *J. Biol. Chem.* 276(26): 23816-23824. NRC 44813.

Yu, Z., Maoui, M., Wu, L., Banville, D., Shen, S. (2001) mSiglec-E, a novel mouse CD33-related siglec (sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin) that recruits Src homology 2 (SH2)-domain-containing protein tyrosine phosphatases SHP-1 and SHP-2. *Biochem. J.* 353(Pt 3): 483-492. NRC 43002.

Zwaagstra, J.C., El Alfy, M., O'Connor-McCourt, M.D. (2001) Transforming growth factor (TGF)-beta 1 internalization: Modulation by ligand interaction with TGF-beta receptors types I and II and a mechanism that is distinct from clathrin-mediated endocytosis. *J. Biol. Chem.* 276(29): 27237-27245. NRC 42992.

Carpentier, E., Lebesque, D., Kamen, A., Hogue, M., Bouvier, M., Durocher, Y. (2001) Increased production of active human β 2-adrenergic/Gas fusion receptor in Sf-9 cells using nutrient limiting conditions. *Protein Expr. Purif.* 23: 66-74. NRC 37696.

Ducret, A., Trani, M., Lortie, R. (2001) Screening of various glycosidases for the synthesis of octyl glucoside. *Biotechnol. Bioeng.* NRC 37692.

Gilbert, R., Nalbantoglu, J., Howell, J.M., Davies, L., Fletcher, S., Amalfitano, A., Petrof, B.J., Kamen, A., Massie, B., Karpati, G. (2001) Dystrophin expression in muscle following gene transfer with a fully deleted ("guttled") adenovirus is markedly improved by trans-acting adenoviral gene products. *Hum. Gene Ther.* 12(14): 1741-1755. NRC 44818.

Klyushnichenko, V., Bernier, A., Kamen, A., Harmsen, E. (2001) Improved high-performance liquid chromatographic method in the analysis of adenovirus particles. *J. Chromatogr. B* 755(1-2): 27-36. NRC 37689.

Luong, J.H.T., Habibi, M., Meghrous, J., Caide, X., Male, K., Kamen, A. (2001) Monitoring motility, spreading and mortality of adherent insect cells using an impedance sensor. *Anal. Chem.* 73(8): 1844-1848. NRC 44580.

Pepin, P., Lortie, R. (2001) Influence of water activity on the enantioselective esterification of (R,S)-ibuprofen by crosslinked crystals of *Candida antartica* lipase B in organic solvent media. *Biotechnol. Bioeng.* 75(5): 559-562. NRC 37691.

Transfiguracion, J., Bernier, A., Chahal, P.S., Kamen, A. (2001) Validation of a high-performance liquid chromatographic assay for the quantification of adenovirus type 5 particles. *J. Chromatogr. B* 761: 187-194. NRC 37694.

SECTEUR ENVIRONNEMENT

Brousseau, R., Hill, J.E., Préfontaine, G., Goh, S.-H., Harel, J., Hemmingsen, S.M. (2001) *Streptococcus suis* serotypes characterized by analysis of Chaperonin 60 gene sequences. *Appl. Environ. Microb.* 67(10): 4828-4833. NRC 44627.

Cerstiaens, A., Verleyen, P., Van Rie, J., Van Kerkhove, E., Schwartz, J.L., Laprade, R., De Loof, A., Schoofs, L. (2001) Effect of *Bacillus thuringiensis* Cry1 toxins in insect hemolymph and their neurotoxicity in brain cells of *Lymantria dispar*. *Appl. Environ. Microb.* 67(9): 3923-3927. NRC 44623.

Coux, F., Vachon, V., Rang, C., Moozar, K., Masson, L., Royer, M., Bes, M., Rivest, S., Brousseau, R., Schwartz, J.L., Laprade, R., Frutos, R. (2001) Role of interdomain salt bridges in the pore-forming ability of the *Bacillus thuringiensis* toxins Cry1Aa and Cry1Ac. *J. Biol. Chem.* 276(38): 35546-35551. NRC 44624.

Gagliardi, J.V., Angle, J.S., Germida, J.J., Wyndham, R.C., Chanway, C.P., Watson, R.J., Greer, C.W., McIntyre, T., Yu, H.H., Levin, M.A., Russek-Cohen, E., Rosolen, S., Nairn, J., Seib, A., Martin-Heller, T., Wisse, G. (2001) Intact soil-core microcosms compared with multi-site field releases for the pre-release testing of microbes in diverse soils and climates. *Can. J. Microbiol.* 47: 237-252. NRC 44607.

Gagné, F., Blaise, C., Lachance, B., Sunahara, G.I., Sabik, H. (2001) Evidence of coprostanol estrogenicity to the freshwater mussel *Elliptio complanata*. *Environ. Pollut.* 115: 97-106. NRC 44586.

Gang, H., Masson, L., Jurat-Fuentes, J.L., Schwab, G., Adang, M.J. (2001) Binding analyses of *Bacillus thuringiensis* Cry δ -endotoxins using brush border membrane vesicles of *Ostrinia nubilalis*. *Appl. Environ. Microb.* 67: 872-879. NRC 43358.

Gong, P., Hawari, J., Thiboutot, S., Ampleman, G., Sunahara, G.I. (2001) Ecotoxicological effects of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine on soil microbial activities. *Environ. Toxicol. Chem.* 20(5): 947-951. NRC 43330.

Greer, C.W., Whyte, L.G., Lawrence, J.R., Masson, L., Brousseau, R. (2001) Genomics technologies for environmental science. *Environ. Sci. Technol.* 35(17): 360 A-366 A. NRC 44609.

Groom, C., Beaudet, S., Halasz, A., Paquet, L., Hawari, J. (2001) Detection of the cyclic nitramine explosives hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) and octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazine (HMX) and their degradation products in soil environments. *J. Chromatogr. A* 909(1): 53-60. NRC 43329.

Guihard, G., Laprade, R., Schwartz, J.L. (2001) Unfolding affects insect cell permeabilization by *Bacillus thuringiensis* Cry1C toxin. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes* 1515(2): 110-119. NRC 44632.

Hawari, J., Halasz, A., Beaudet, S., Paquet, L., Ampleman, G., Thiboutot, S. (2001) Biotransformation routes of octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine by municipal anaerobic sludge. *Environ. Sci. Technol.* 35: 70-75. NRC 43332.

Hilmi, A., Luong, J.H.T. (2001) Development of rotating electrochemical detectors for capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* 73(11): 2536-2540. NRC 44587.

Labidi, M., Ahmad, D., Halasz, A., Hawari, J. (2001) Biotransformation and partial mineralization of the explosive 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) by rhizobia. *Can. J. Microbiol.* 47(6): 559-566. NRC 44584.

Luong, J.H.T., Habibi, M., Meghrous, J., Caide, X., Male, K., Kamen, A. (2001) Monitoring motility, spreading and mortality of adherent insect cells using an impedance sensor. *Anal. Chem.* 73(8): 1844-1848. NRC 44580.

Male, K., Luong, J.H.T. (2001) Derivatization, stabilization and detection of biogenic amines by cyclodextrin-modified capillary electrophoresis-laser-induced fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* 926(2): 309-317. NRC 44633.

Nishio, T., Patel, A., Wang, Y., Lau, P.C.K. (2001) Biotransformations catalyzed by cloned *p*-cymene monooxygenase from *Pseudomonas putida* F1. *Appl. Microbiol. Biot.* 55: 321-325. NRC 43302.

Peyronnet, P., Vachon, V., Schwartz, J.L., Laprade, R. (2001) Ion channels induced in planar lipid bilayers by the *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Aa in the presence of gypsy moth (*Lymantria dispar*) brush border membrane. *J. Membrane Biol.* 184(45): 54. NRC 44619.

PUBLICATIONS 2001

Rang, C., Vachon, V., Coux, F., Carret, C., Moar, W.J., Brousseau, R., Schwartz, J.L., Laprade, R., Frutos, R. (2001) Exchange of domain I from *Bacillus thuringiensis* Cry1 toxins influences protoxin stability and crystal formation. *Curr. Microbiol.* 43: 1-6. NRC 44600.

Renoux, A.Y., Tyagi, R.D., Samson, R. (2001) Assessment of toxicity reduction after metal removal in bioleached sewage sludge. *Water Res.* 35(6): 1415-1424. NRC 43331.

Renoux, A.Y., Caumartin, J., Thiboutot, S., Ampleman, G., Sunahara, G.I. (2001) Derivation of environmental soil quality guidelines for 2,4,6-trinitrotoluene using the CCME approach. *Hum. Ecol. Risk Ass.* 7(6): 1715-1735. NRC 44591.

Rho, D., Hodgson, J., Thiboutot, S., Ampleman, G., Hawari, J. (2001) Transformation of 2,4-6-trinitrotoluene (TNT) by immobilized *Phanerochaete chrysosporium* under fed-batch and continuous TNT feeding conditions. *Biotech. Bioeng.* 73(4): 271-281. NRC 41762.

Robidoux, P.Y., Hawari, J., Thiboutot, S., Ampleman, G., Sunahara, G.I. (2001) Chronic toxicity of octahydro-a,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine (HMX) in soil determined using the earthworm (*Eisenia andrei*) reproduction test. *Environ. Pollut.* 111(2): 283-292. NRC 43293.

Robidoux, P.Y., Delisle, C.A. (2001) Ecotoxicological evaluation of three deicers (NaCl, NaFo, CMA): Effect on terrestrial organisms. *Ecotox. Environ. Safety* 48: 128-139. NRC 44575.

Robidoux, P.Y., Choucri, A., Bastien, C., Sunahara, G.I., Lopez-Gastey, J. (2001) Interlaboratory study for the validation of an ecotoxicological procedure to monitor the quality of septic sludge received at a wastewater treatment plant. *Environ. Toxicol.* 16(2): 158-171. NRC 43318.

Schwartz, J.L., Potvin, L., Coux, F., Charles, J.-F., Berry, C., Humphreys, M.J., Jones, A.F., Bernhart, I., Dalla Serra, M., Menestrina, G. (2001) Permeabilization of model lipid membranes by *Bacillus sphaericus* mosquitocidal binary toxin and its individual components. *J. Membrane Biol.* 184(171): 183. NRC 44599.

Shen, C.F., Hawari, J., Paquet, L., Ampleman, G., Thiboutot, S., Guiot, S.R. (2001) Explosive biodegradation in soil slurry batch reactors amended with exogenous microorganisms. *Water Sci. Technol.* 43(3): 291-298. NRC 43313.

Sheremata, T., Halasz, A., Paquet, L., Thiboutot, S., Ampleman, G., Hawari, J. (2001) The fate of the cyclic nitramine explosive RDX in natural soil. *Environ. Sci. Technol.* 35: 1037-1040. NRC 44588.

Siciliano, S.D., Fortin, N., Mihoc, A., Wisse, G., Labelle, S., Beaumier, D., Ouellette, D., Roy, R., Whyte, L.G., Banks, M.K., Schwab, P., Lee, K., Greer, C.W. (2001) Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. *Appl. Environ. Microb.* 67(6): 2469-2475. NRC 44608.

Tartakovsky, B., Michotte, A., Cadieux, J.-J., Lau, P.C.K., Hawari, J., Guiot, S.R. (2001) Degradation of aroclor 1242 in a single stage coupled anaerobic/aerobic bioreactor. *Water Res.* 35(18): 4323-4330. NRC 44592.

Tartakovsky, B., Manuel, M.F., Beaumier, D., Greer, C.W., Guiot, S.R. (2001) Enhanced selection of an anaerobic pentachlorophenol degrading consortium. *Biotech. Bioeng.* 73(6): 476-483. NRC 43328.

Tessier, D., Thomas, D.Y., Brousseau, R. (2001) A DNA microarrays fabrication strategy for research laboratories. *Biotechnology* (9): 228-237. NRC 42991.

Tran, L.B., Vachon, V., Schwartz, J.L., Laprade, R. (2001) Differential effects of pH on the pore-forming properties of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal toxins. *Appl. Environ. Microb.* 67(10): 4488-4494. NRC 44621.

Trosok, S.P., Driscoll, B.T., Luong, J.H.T. (2001) Mediated microbial biosensor using a novel yeast strain for wastewater BOD measurement. *Appl. Microbiol. Biot.* 56(3-4): 550-554. NRC 44644.

Vié, V., Van Mau, N., Pomarède, P., Dance, C., Schwartz, J.L., Laprade, R., Frutos, R., Rang, C., Masson, L., Heitz, F., Le Grimellec, C. (2001) Lipid-induced pore formation of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa insecticidal toxin. *J. Membrane Biol.* 180: 195-203. NRC 44594.

Voigt, A., Hendershot, W.H., Renoux, A.Y. (2001) Adsorption of Cd, Cu, Ni and Pb on petri dishes and filter materials used in bioassay procedures. *B. Environ. Contam. Tox.* 66: 44-49. NRC 44604.

Whyte, L.G., Goalen, B., Hawari, J., Labbe, D., Greer, C.W., Nahir, M. (2001) Bioremediation treatability assessment of hydrocarbon-contaminated soils from Eureka, Nunavut. *Cold Reg. Sci. Technol.* 32(2-3): 121-132. NRC 43338.

Yerushalmi, L., Guiot, S.R. (2001) Biodegradation of benzene in a laboratory-scale biobarrier at low dissolved oxygen concentrations. *Bioremediation* 5(1): 63-77. NRC 43269.

Yerushalmi, L., Lascourrèges, J.-F., Rhofir, C., Guiot, S.R. (2001) Detection of intermediate metabolites of benzene biodegradation under microaerophilic conditions. *Biodegradation* 12: 379-391. NRC 44593.

ALLIANCES INDUSTRIELLES

Au cours de l'exercice financier 2001-2002, les revenus de l'IRB provenant de contrats de recherche, de licences, de services et d'ententes de collaboration avec des partenaires industriels et gouvernementaux ont atteint 5,131 millions de dollars. En tenant compte des revenus provenant des partenariats industriels (1,596 million de dollars), les revenus de l'IRB totalisent 6,727 millions de dollars.

SECTEUR SANTÉ

Le secteur pharmaceutique a collaboré avec des partenaires industriels et universitaires pour une valeur totale de 1,126 million de dollars.

Adherex Technologies

Accès aux spectromètres RMN de 500 et 800 MHz

Advanced Bioconcept / Accès à de l'équipement

Agriculture et Agroalimentaire Canada

Synthèse d'oligonucléotides et impression de biopuces

Boehringer Ingelheim (Canada)

Accès à de l'équipement à rayons X

Agence spatiale canadienne

Analyse et étude de la qualité du cristal et des limites de diffraction des cristaux de protéines

Caprion Pharmaceuticals

Accès à un microscope, une caméra et un comptoir « propre »

Converzyme

Expression et études structurales de convertases de pro-proprotéines

Elitra Pharmaceuticals

Accès à la base de données de production des biopuces

Environnement Canada, Institut national de recherche sur les eaux

Synthèse d'oligonucléotides

Heinrich-Heine-Universitaet Duesseldorf

Production de biopuces d'amplificons de *Candida albicans*

Indian Institute of Science

Production de biopuces d'amplificons de *Candida albicans*

INRS-Institut Armand Frappier

Développement d'un vaccin recombinant contre l'infection par le virus du syndrome reproducteur et respiratoire des porcs (VSRRP)

Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM)

Production et purification du HoxB4 dans *E. coli*

Lallemand

Préparation génétique d'une levure alimentaire sensible aux basses températures

McGill University, Lady Davis Institute

Balayage et analyse de biopuces

Mycota Biosciences (Elitra Pharmaceuticals)

Impression de lames et repurification d'oligonucléotides

Novoscience Pharma

Accès au spectromètre RMN de 500 MHz

Ocell

Criblage d'inhibiteurs d'enzymes

Osteopharm (GenSci Regeneration)

Localisation du site de liaison du récepteur et caractérisation du peptide OSA-1

Pharmaco

Consultation

Pfizer

Production et purification de la cathepsine X humaine

Procrea Biosciences

Production sur mesure de biopuces

Procrea Biosciences

Accès à la chambre noire, au processeur X-OMAT M20 et à l'imageur Phosphore 425C

Procyon Biopharma

Production d'hybridomes sécrétant des anticorps contre le peptide OSA-117M

Procyon Biopharma

Étude des interactions entre protéines

Procyon Biopharma

Validation de l'expression du FTCD8 et préparation de cellules transfectées stables

Prometic Biosciences

Accès au spectromètre RMN de 500 MHz et au Wallac MicroBeta Trilux 1450

PSMA Development Company, LLC (Progenics)

Développement d'une lignée cellulaire stable propice à la production cGMP à grande échelle de l'anticorps humain recombinant (IgG1) en culture sans sérum

Qbiogene

Développement de banques d'adénovirus

Shire Biochem

Accès aux spectromètres RMN de 500 et 800 MHz

Université de Montréal

Adaptation de la ligne de faisceau X8-C au Brookhaven National Laboratory pour devenir une ligne de faisceau de cristallographie protéinique qualifiée avec la capacité de mesurer les dispersions anormales multilongueurs.

Université du Québec à Montréal (UQAM)

Production et caractérisation d'adénovirus

University of Aberdeen and The British Council

Réseaux régulateurs dans le pathogène fongique *Candida albicans*

University of Arkansas

Production de biopuces d'amplificons de *Candida albicans*

University of Tennessee

Production de biopuces d'amplificons de *Candida albicans*

University of Toronto

Production de biopuces d'amplificons de *Candida albicans*

University of Toronto

Impression de biopuces

ET PARTENARIATS

La Plateforme Bioprocédés a signé des ententes de services et de collaboration avec des partenaires des secteurs public et privé totalisant 1,709 million de dollars.

PLATEFORME BIOPROCÉDÉS

Abbott Bioresearch

Production des protéines kinase COT et IL-18MAB dans les cellules HEK293 par transfections transitoires à grande échelle

Abbott Bioresearch

Production de protéines kinases et d'anticorps monoclonaux dans les cellules HEK293 par transfections transitoires à grande échelle pour la production de protéines recombinantes

AlphaOne/Prometic Biosciences

Production d'une protéine recombinante par levure à l'échelle pilote

AstraZeneca

Production de protéines dans les cellules 293 par transfection transitoire

Bioniche Therapeutics

Production de matériel de paroi cellulaire à partir de plusieurs espèces bactériennes

Biosignal Packard

Croissance de *E. coli* dans des bioréacteurs de 20 et 150 L, et collection de cellules par centrifugation

Converzyme

Cellules 293 SF et vecteur pTT

DSM Biologics

Production de deux protéines recombinantes dans *E. coli*, de la sélection du clone jusqu'à la mise à l'échelle

DSM Biologics

Production de cultures en série de 60 et 80 L

DSM Biologics

Services pharmaceutiques et de bioprocédés

DSM Biologics

Services d'ultrafiltration

DSM Biologics

Assistance technique pour le traitement en aval

Insect Biotechnology

Production de KM71H à l'échelle de 20 L

Insect Biotechnology

Fermentations et travail microbien

Insect Biotechnology

Identification microbienne de contaminants

Insect Biotechnology

Purification par HPLC

Insect Biotechnology

Evaluation and fermentation of *Pichia*-TMOF

Université McGill/Valorisation-Recherche Québec (VRQ)

Centre de thérapie expérimentale du cancer de Montréal (CTECM), Réseau du cancer du Fonds de recherche en santé du Québec (FRSQ)

Merck Frosst

Mise à échelle et production de microsomes des cytochromes P450

Merck Frosst

Expression et production de protéines recombinantes dans des cellules animales

Ressources naturelles Canada,

Service canadien des forêts

Production de cellules CF en culture sans sérum

NIM Biomedical

Désintégration de cellules par microfluidiseur

Novartem

Production de bioplastiques par fermentation

Prescient Neuropharma

Expression de protéine recombinante humaine par transfection transitoire de HEK293 : purification de protéine, amplification de vecteur et production d'ADN

University of Singapore

Développement d'un procédé pour la production de protéines recombinantes par baculovirus en culture de cellules d'insectes

University of Singapore

Production microbienne d'arômes alimentaires

ALLIANCES INDUSTRIELLES

Le secteur environnement a signé des ententes de services et/ou de collaboration avec des partenaires industriels et des organismes publics pour une valeur totale de 2,2 millions de dollars.

SECTEUR ENVIRONNEMENT

AEF Global

Recherche d'isolats indigènes du *Bacillus Thuringiensis* serovar *israelensis* dans l'environnement naturel québécois

AEF Global

Développement de techniques analytiques

Biofolium

Plate-forme technologique de biocapteurs : étude de faisabilité pour diverses applications, prototypage et évaluation de performance

Biogénie SRDC

Développement d'un bioprocédé anaérobie pour la réhabilitation de sites contaminés par des composés récalcitrants

Biogénie SRDC

Analyse de composés organochlorés par GC et d'ions par HPLC

Biolix/Institut national de la recherche scientifique (INRS)

Optimisation et validation environnementale du procédé METIX-AC pour la décontamination et la valorisation de boues d'épuration municipales

Bioniche Therapeutics

Accès au compteur Coulter Z3 et au processeur X-OMAT M20

Biophage

Accès au processeur X-OMAT M20

Bodycote Materials Testing Canada

Évaluation des résultats de tests chimiques et toxicologiques sur les échantillons d'abat-poussière

Bodycote Materials Testing Canada

Mesure de la génotoxicité d'abat-poussière

Développement économique Canada pour les régions du Québec

Plateforme de R&D en biorestauration des sols

Compatigene

Accès au processeur X-OMAT M20

Construction de Défense Canada

Analyse de matériaux énergétiques dans les sols

Degrémont Infilco

Biodégradabilité anaérobie et méthanogénique d'un effluent chimique

Dow Agrosciences / Agrigenetics / Mycogen Seeds

Mode d'action de la toxine binaire du *Bacillus thuringiensis*

DSM Biologics

Accès au processeur X-OMAT M20

Environnement Canada

Activités reliées à la Stratégie canadienne en biotechnologie (SCB) et au programme STAGE

Environnement Canada

Application de biopuces pour le monitoring d'impacts environnementaux

Environnement Canada, Institut national de recherche sur les eaux / University of Guelph

Application de biopuces pour caractériser les produits de consortiums microbiens

Pêches et Océans Canada

Évaluation par biopuces de la réponse d'une commu-

nauté microbienne intertidale à un déversement contrôlé de pétrole

Pêches et Océans Canada / Santé Canada

Impacts sur l'environnement et biorestauration de sols contaminés au port de Sydney, N.-É.

Pêches et Océans Canada, Institut Maurice-Lamontagne

Distribution, transformation et toxicité des composés bromés dans l'estuaire du Saint-Laurent

GEO-Centers

Développement d'une base de référence initiale des valeurs limites de toxicité des sols pour des agents dangereux et d'autres composés d'importance militaire à risques

Golder Associates / Centre d'excellence de Montréal en réhabilitation de sites (CEMRS)

Méthode d'augmentation thermique combinée à de la bioaspiration pour la récupération d'hydrocarbures légers

Santé Canada / Environnement Canada, Institut national de recherche sur les eaux

Interactions oxygène/nutriments dissous et comportement des contaminants dans un écosystème aquatique microbien

Hydrogéoplus / Transports Canada/ Environnement Canada

Technique de biorestauration pour la décontamination d'un aquifère contaminé aux nitrates à l'aéroport de Baie-Comeau

ET PARTENARIATS

InspecSol / Centre d'excellence de Montréal en réhabilitation de sites (CEMRS)

Phytorémédiation de sols contaminés

Institut français du pétrole

Biodégradation des éthers-carburants dans des réacteurs de type biofiltre et biobarrière

Lallemand

Analyse de glucides par HPLC

Centre d'excellence de Montréal en réhabilitation de sites (CEMRS)

Réhabilitation de sites contaminés

Communauté urbaine de Montréal

Méthode écotoxicologique d'évaluation de la qualité de l'eau dans le réseau d'égouts et à la station d'épuration

Défense nationale Canada, 3^e escadre, Bagotville

Caractérisation environnementale et évaluation d'un site contaminé

Défense nationale Canada, BFC Chatham, N.-B.

Potentiel d'atténuation naturelle

Défense nationale Canada, BFC Chatham, N.-B.

Biostimulation de la dégradation des BTX dans un panache de contamination dissous

Défense nationale Canada, BFC Trenton, ON

Biorestauration d'une source de solvant chloré

Défense nationale Canada, BFC Trenton, ON

Biorestauration d'un sol contaminé aux hydrocarbures de pétrole et d'un panache de chlorobenzène

Défense nationale Canada, Centre de recherches pour la défense Valcartier

Caractérisation et rémédiation de sols contaminés aux explosifs

Défense nationale Canada, Centre de recherches pour la défense Valcartier

Potentiel de biodégradation intrinsèque de la contamination par le trichloroéthylène de l'aquifère de Valcartier

Défense nationale Canada, Collège militaire royal du Canada

Caractérisation microbienne d'un système de traitement des eaux souterraines à la BFC Borden

Nexfor

Vérification des caractéristiques biologiques et d'ingénierie d'un biofiltre industriel déjà existant

Novoscience Pharma

Analyse par HPLC de peptides et de composés peptidomimétiques

Paradigm Environmental Technologies

Tests d'inhibition anaérobie d'un procédé de traitement des boues

Prometic Biosciences

Accès au processeur X-OMAT M20

Travaux publics et Services gouvernementaux Canada

Étude de biotraitabilité : site Eureka

Sanexen / Centre d'excellence de Montréal en réhabilitation de sites (CEMRS)

Développement d'un logiciel pour l'évaluation des risques écotoxicologiques des sites contaminés

Sanexen / Centre d'excellence de Montréal en réhabilitation de sites (CEMRS)

Recherche, développement et démonstration d'un système d'Ultrasorption et d'un bioréacteur à lit adsorbant, et projet pilote sur l'épuration des eaux souterraines au Technoparc de Montréal

Soconag

Activité spécifique de microorganismes provenant de lixiviats et de déchets de lieux d'enfouissement sanitaire

Totalfinaelf Lubrifiants

Potentiel d'atténuation naturelle de l'aquifère du site contaminé de Fina/Ertvelde

Transports Canada

Technique de biorestauration pour la décontamination d'un aquifère contaminé aux nitrates

Transports Canada

Étude de faisabilité de traitement *in situ* des eaux souterraines avec une biobarrière au Lac Nithecun

Transports Canada

Études de stabilité d'une biobarrière

Université de Montréal

Réseau canadien de recherche sur les bactéries pathogènes du porc du CRSNG

LES ARTISANS DU SUCCÈS

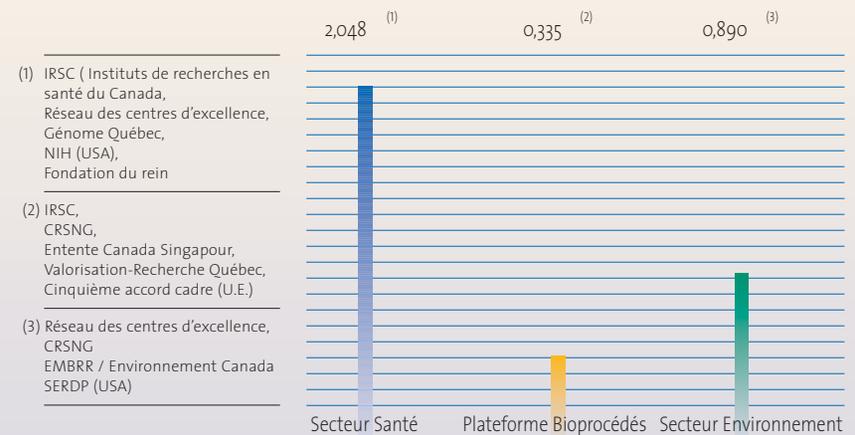
RESSOURCES HUMAINES À L'IRB 2001-2002

	1997-98	1998-99	1999-00	2000-01	2001-2002
Personnel du CNRC	257	266	304	277	277
Travailleurs invités	120	136	174	153	153
Étudiants et chercheurs post-doctoraux	32	35	60	57	57
Personnel de sociétés privées	84	149	260	304	334
Personnel d'agences	N/D	N/D	22	21	21
TOTAL	493	586	820	812	842

EMPLOYÉS DU CNRC À L'IRB 2001-2002

Directeurs	4
Agents de recherche et agents du Conseil de recherche	63
Attachés de recherche	11
Agents techniques	144
Soutien des activités de recherche	11
Administration	21
Soutien administratif	23
Total	277

SUBVENTIONS, APPROUVÉES PAR COMITÉS DE PAIRS* 2001-2002 (MILLIERS DE DOLLARS)



* Non inclus dans les revenus annuels de l'IRB

ÉTATS FINANCIERS 2001-2002

REVENUS ANNUELS - IRB (MILLIERS DE DOLLARS)

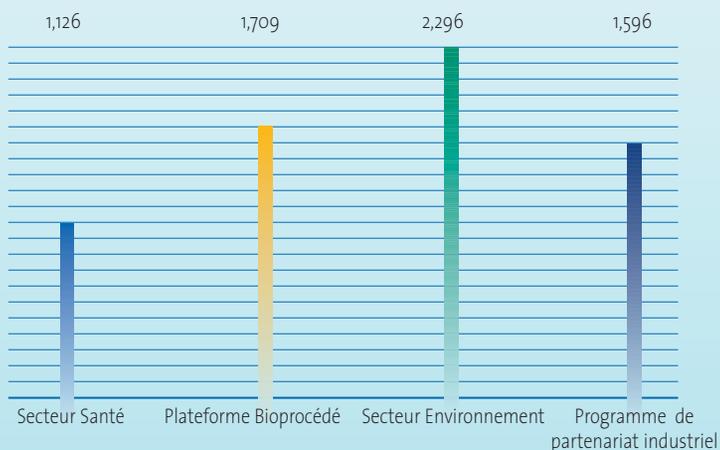
Contrats de recherche, services, droits de licence et Programme de partenariat industriel	3,853
Ententes de collaboration avec des partenaires industriels	1,397
Ententes de collaboration avec des partenaires gouvernementaux	1,477
Total des revenus	6,727

DÉPENSES ANNUELLES - IRB (MILLIERS DE DOLLARS)

Salaires* - IRB	13,466
Dépenses de fonctionnement - IRB	9,691
Dépenses en capital - IRB	4,006
Total des dépenses - IRB	27,163
Salaires* - Initiative génomique en santé (IGS-CNRC)	1,164
Dépenses de fonctionnement - Initiative génomique en santé (IGS-CNRC)	2,592
Dépenses en capital - Initiative génomique en santé (IGS-CNRC)	0,349
Total des dépenses	31,268

* Avantages sociaux non inclus

TOTAL DES REVENUS PAR SECTEUR - IRB (MILLIERS DE DOLLARS)



ÉVOLUTION DES REVENUS GLOBAUX - IRB (MILLIERS DE DOLLARS)

	1997-98	1998-99	1999-00	2000-2001*	2001-2002
Contrats de recherche, services, droits de licence et Programme de partenariat industriel	2,285	3,649	3,428	3,134	3,853
Recherche en collaboration avec des partenaires des secteurs public et privé	1,296	2,134	2,403	1,702	2,874
Total des revenus	3,581	5,783	5,831	4,836	6,727

* Certains paiements ont été reportés à l'année fiscale suivante.



ENTREPRISES ET ASSOCIATIONS

localisées à l'IRB

Bio-Artificial Gel Technologies

www.bagtech.com
Dermo-cosmétique, dermo-pharmaceutique
et réactifs de laboratoire
Dr. Marie-Pierre Faure
(514) 280-7804
marie-pierre.faure@bagtech.com

BioMatera

www.biomatera.com
Développement de stratégies pour
la production de biopolymères
Mr. François Desjardins
(514) 496-4085
francois_desjardins@biomatera.com

Bioniche Therapeutics

www.bioniche.com
Médicaments anti-cancers et agents
immunomodulateurs
Dr. Mario Filion
(514) 496-7723
mfilion@bioniche.com

Biophage

www.biophage.com
Immunologie, produits diagnostiques
et thérapeutiques
Dr. Rosemonde Mandeville
(514) 496-7722
rosemonde.mandeville@nrc.ca

Bio-Québec

www.bioquebec.com
Le réseau d'affaires des bio-industries
du Québec
M. Perry Niro
(514) 733-8411
pniro@bioquebec.com

Caprion Pharmaceuticals

www.caprion.com
Diagnostiques et thérapeutiques
en neurologie, protéomique subcellulaire
Dr. Tony Matzouranis
(514) 940-3612
tmatzouranis@caprion.com

Carbomer Life Science Molecules

www.carbomer.com
Polymères et spécialités biochimiques
Dr. Manssur Yalpani
(514) 496-7439
carbism@aol.com

Compatigene

Immunothérapie du cancer
Dr. Stéphane Pion
(514) 842-9849
spion@t2c2capital.com

DSM Biologics

www.dsmbiologics.com
Développement de bioprocédés et production
de matériel biopharmaceutique à contrat
Dr. Martina Bielefeld-Sévigny
(514) 496-6074
martina.bielefeld-sevigny@dsm-group.com

Hukabel Scientifique

www.hukabel.com
Production d'oligonucléotides
Ms. Sylvie Berardi-Zimmermann
(514) 990-2670
sylvie.zimmermann@nrc.ca

Lallemand

www.lallemand.com
Production de levures et bactéries pour bois-
sons fermentées, produits de boulangerie et
nutrition humaine et animale
Dr. Richard Degré
(514) 522-2133
rdegre@lallemand.com

Nanobiogen

Nanobiotechnologies, technologies
de criblage à très haut rendement
Dr. Moussa Hoummady
(514) 496-1185
moussa.hoummady@nrc.ca

NIM Biomedical

www.nimbiomedical.com
Criblage de molécules thérapeutiques et iden-
tification, clonage et expression de protéines
recombinantes, fermentation à haute densité
de cellules de mammifères
Dr. Jiyu Lei
(514) 496-3974
jiyu.lei@nrc.ca

Novoscience Pharma

www.novoscience.com
Découverte de médicaments
Dr. Yudu Cheng
(514) 496-9128
yudu.cheng@nrc.ca

PerkinElmer Life Sciences

www.perkinelmer.com
Synthèse de fluopeptides et développement
d'applications
Mr. Peter Banks
(514) 496-4014
peter.banks@perkinelmer.com

Procrea BioSciences

www.procrea.com
Médecine de la reproduction, criblage gé-
nétique et génomique de l'endométriose et du
cancer du sein et des ovaires
Dr. Patrice Hugo
(514) 496-5281
mdomin@procrea.qc.ca

Procyon Biopharma

www.procyonbiopharma.com
Recherche sur le cancer
Dr. Salam Kadhim
(514) 496-0794
salam.kadhim@nrc.ca

ProMetic Sciences de la Vie

www.prometic.com
Purification de protéines
Dr. Pierre Laurin
(514) 496-2139
info@prometic.com



Marketing et rayonnement international

Une fois de plus cette année, l'Institut de recherche en biotechnologie a connu un rayonnement international en participant à de nombreuses conférences et expositions internationales et en accueillant des délégations étrangères et des participants venus de tous les coins de la planète lors du septième symposium annuel, « Le Carrefour de la biotechnologie ».

Cette année, les chercheurs de l'IRB ont participé à 77 réunions et conférences internationales, tandis que les représentants de l'IRB assuraient la présence de l'Institut lors de nombreuses expositions : BIO 2001 (San Diego, États-Unis), Americana 2001 (Montréal, Canada), BioNorth 2001 (Ottawa, Canada), Exfor 2001 (Montréal, Canada), Society for Industrial Microbiology Recent Advances in Fermentation Technology IV (Long Beach, États-Unis).

L'IRB a accueilli plusieurs délégations venant d'organismes locaux, nationaux et internationaux : 15 délégations gouvernementales (Belgique, Canada, Allemagne, Japon, Singapour, Royaume-Uni), huit missions étrangères (Chine, France, Allemagne, Maroc, Royaume-Uni, États-Unis), 24 groupes émanant du milieu des affaires et des associations internationales, 15 représentants de la presse étrangère et 12 délégations collégiales et universitaires.

L'IRB a organisé et s'est fait l'hôte de divers colloques et ateliers : Développement de nouveaux réactifs intelligents destinés à la recherche sur l'administration de gènes, Atelier sur la technologie HTS, Atelier sur les micromatrices, Pharma Biodevelopment Meetings, Réunion du

Réseau du PARI, Taipei Economic & Cultural Office Meeting et Young Presidents' Organization Meeting.

Le symposium international annuel, « Le Carrefour de la biotechnologie », a encore cette année marqué un temps fort du marketing de l'IRB. Le symposium, plaque tournante des industries nord-américaine et européenne, est le point de rencontre entre la biotechnologie et le pharmaceutique. L'événement met l'accent sur l'avenir de l'industrie biopharmaceutique dans une perspective commerciale tout autant que scientifique.

« Le Carrefour de la biotechnologie 2001 » a attiré plus de 1000 participants venus de 25 pays. Le symposium, dont le thème était « Biopharmaceutique : stratégies post-génomiques », a couvert toute une gamme de sujets comme l'impact de la génomique et la médecine du futur, la bioéthique, la médecine régénérative et la nanobiotechnologie. Le Carrefour réunissait des conférenciers internationaux reconnus comme chefs de file dans leurs disciplines respectives : M. Jean-François Leprince, vice-président, Rx&D, et président d'Aventis Pharma Inc. (Canada), le Dr Kenneth Kaitin, directeur du Tufts Center for the Study of Drug Development (États-Unis), le Dr Mervyn Turner, premier

vice-président du Centre de recherche thérapeutique Merck Frosst (Canada), D^{re} Nancy Parenteau, première vice-présidente et chef de la direction scientifique, Organogenesis (États-Unis) et le D^r Pierre Legrain, vice-président, Science et technologie, Hybrigenics (France).

Quatre délégations étrangères (Royaume-Uni, Taiwan, Suisse, Chine) ont assisté à cet événement qui durait deux jours et qui a obtenu le support de 22 commanditaires. « Le Carrefour de la biotechnologie » est vraiment devenu un incontournable aux yeux des décideurs de l'industrie biopharmaceutique puisque, cette année, plus des deux tiers des participants venaient du secteur privé et la plupart d'entre eux étaient des cadres supérieurs.

L'an dernier, le service de marketing de l'IRB a visé, à l'échelle nationale et internationale, à accentuer la visibilité de l'Institut dans les secteurs de la santé, des bioprocédés et de l'environnement, à étendre ses liens avec les milieux universitaire et industriel, à positionner l'Institut à titre de centre de recherche de premier rang en biotechnologie, à faire connaître les réalisations et les réussites scientifiques de l'IRB ainsi que son rôle clé au sein de la grappe biopharmaceutique montréalaise.

PERSONNEL CLÉ DE L'IRB 2002

Michel J. Desrochers, Ph.D.
Directeur général

T (514) 496-6101
F (514) 496-6388
E MICHEL.DESROCHERS@NRC.CA

Secteur Santé

Andrew Storer, Ph.D.
Directeur, Secteur Santé
T (514) 496-6256
F (514) 496-1629
E ANDREW.STORER@NRC.CA

CHEFS DE GROUPE

Mirek Cygler, Ph.D.
Structure macromoléculaire
T (514) 496-6321
F (514) 496-5143
E MIREK.CYGLER@NRC.CA

Yasuo Konishi, Ph.D.
Chimie des protéines
T (514) 496-6339
F (514) 496-5143
E YASUO.KONISHI@NRC.CA

Robert Ménard, Ph.D.
Enzymologie
T (514) 496-6317
F (514) 496-5143
E ROBERT.MENARD@NRC.CA

Feng Ni, Ph.D.
RMN biomoléculaire
T (514) 496-6729
F (514) 496-5143
E FENG.NI@NRC.CA

Maureen O'Connor-McCourt, Ph.D.
Récepteurs, signalisation
et protéomique
T (514) 496-6382
F (514) 496-5143
E MAUREEN.O'CONNOR@NRC.CA

Enrico Purisima, Ph.D.
Chimie computationnelle
T (514) 496-6343
F (514) 496-5143
E ENRICO.PURISIMA@NRC.CA

Shi-Hsiang Shen, Ph.D.
Génétique des cellules de
mammifères
T (514) 496-6318
F (514) 496-5143
E SHI.SHEN@NRC.CA

Malcolm Whiteway, Ph.D.
Génétique
T (514) 496-6146
F (514) 496-6213
E MALCOLM.WHITEWAY@NRC.CA

Plateforme Bioprocédés

Denis Groleau, Ph.D.
Directeur, Plateforme Bioprocédés
T (514) 496-6327
F (514) 496-7251
E DENIS.GROLEAU@NRC.CA

CHEFS DE GROUPE

Robert Lortie, Ph.D.
Technologie microbienne
et enzymatique
T (514) 496-6186
F (514) 496-5485
E ROBERT.LORTIE@NRC.CA

Amine Kamen, Ph.D.
Technologie de cellules animales
et purification
T (514) 496-2264
F (514) 496-6785
E AMINE.KAMEN@NRC.CA

Bernard Massie, Ph.D.
Vecteurs de génomique et
de thérapie génique
T (514) 496-6131
F (514) 496-5143
E BERNARD.MASSIE@NRC.CA

Secteur Environnement

Adrien Pilon, M.Sc. Env.
Directeur, Secteur Environnement
T (514) 496-6180
F (514) 496-1575
E ADRIEN.PILON@NRC.CA

CHEFS DE GROUPE

Roland Brousseau, Ph.D.
Génétique de l'environnement
T (514) 496-6152
F (514) 496-6213
E ROLAND.BROUSSEAU@NRC.CA

Charles Greer, Ph.D.
Microbiologie de l'environnement
T (514) 496-6182
F (514) 496-6265
E CHARLES.GREER@NRC.CA

Serge Guiot, D.Sc.
Bioingénierie environnementale
T (514) 496-6181
F (514) 496-6265
E SERGE.GUIOT@NRC.CA

Jalal Hawari, Ph.D.
Chimie analytique
T (514) 496-6267
F (514) 496-6265
E JALAL.HAWARI@NRC.CA

John Luong, Ph.D.
Biocapteurs
T (514) 496-6175
F (514) 496-6265
E JOHN.LUONG@NRC.CA

Geoffrey Sunahara, Ph.D.
Écotoxicologie appliquée
T (514) 496-8030
F (514) 496-6265
E GEOFFREY.SUNAHARA@NRC.CA

Propriété intellectuelle

Sandu Goldstein, Ph.D.
Directeur, Propriété intellectuelle
T (514) 496-6327
F (514) 496-5007
E SANDU.GOLDSTEIN@NRC.CA

Affaires industrielles

Martine Courtemanche, B.Sc.
Agent de développement des affaires
T (514) 496-8507
F (514) 496-5007
E MARTINE.COURTEMANCHE@NRC.CA

Daniel Desmarceaux, M.Sc., MBA
Agent de développement des affaires
T (514) 496-5300
F (514) 496-5007
E DANIEL.DESMARCEAUX@NRC.CA

Eileen Raymond, Eng., M.Sc.
Agent de développement des affaires
T (514) 496-6349
F (514) 496-5007
E EILEEN.RAYMOND@NRC.CA

Marketing et Communications

Marie-Odile Martin, B.Sc., MBA
Gestionnaire en marketing
T (514) 496-6374
F (514) 496-5007
E MARIE-ODILE.MARTIN@NRC.CA

L'IRB tient à remercier les personnes qui ont contribué à la préparation de ce document en fournissant des photos et d'autres éléments visuels :



**Institut de recherche
en biotechnologie**
CNRC - NRC

- Luc Beaulieu, Photographe
- Denis Banville, Ph.D.
- Antoine Caron, B.Sc.
- Mirek Cygler, Ph.D.
- Charles Greer, Ph.D.
- Maureen O'Connor, Ph.D.
- Feng Ni, Ph.D.
- Daniel Tessier, M.Sc.
- Malcolm Whiteway, Ph.D.
- Lyle Whyte, Ph.D.

Conception graphique :
GauvreauMessier Communicateurs-Conseils
Rédacteur scientifique : Wayne Campbell
Traduction : Micheline Grimard

Also available in English.

Pour obtenir des exemplaires de ce rapport,
veuillez contacter :

Martine Dubé

CNRC - Institut de recherche en biotechnologie
6100, avenue Royalmount
Montréal (Québec) H4P 2R2 Canada
Tél. : (514) 496-5329
Fax : (514) 496-5007
Internet : <http://www.bri.nrc.ca>
E-mail : bri@nrc.ca

Il est permis de reproduire des passages de ce
rapport sous réserve d'en mentionner la source.