

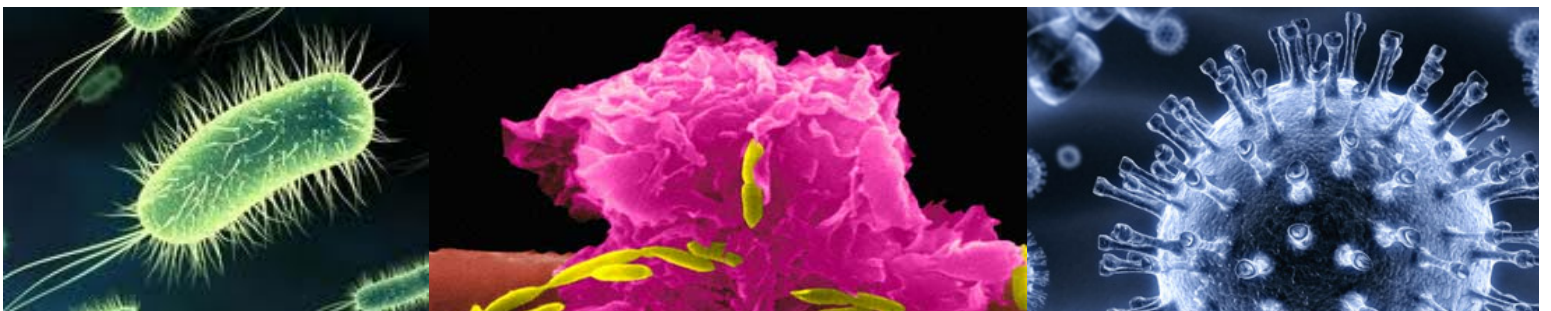


# Journée de la Recherche du Département de microbiologie, infectiologie et immunologie

*Jeudi 10 mars 2016*

Organisée par le RÉMIC

(Regroupement des Étudiants gradués du département de Microbiologie et Immunologie sur le Campus)



# Table des matières

Horaire de la journée.....	page 3
Remerciements.....	page 4
Résumés des présentations orales (p.5 à 18):	
Séance I .....	page 5
Séance II .....	page 9
Séance III .....	page 14
Conférence Dr. Eric J. Arts.....	page 18
Résumés des présentations par affiche (p.19 à 36):	
Bloc A.....	page 22
Bloc B.....	page 26
Bloc C.....	page 32

## **\*\*\*INFORMATIONS IMPORTANTES POUR LES PARTICIPANTS\*\*\***

### Mise en place des présentations :

Les présentations orales doivent être compatibles avec le logiciel *Microsoft Power Point 2007*. Les participants sont tenus de transférer leurs présentations (à partir d'une clé USB) sur l'ordinateur mis à leur disposition au Hall d'Honneur du pavillon Roger-Gaudry lors de l'inscription (entre 8:00 et 8:30) ou pendant le diner (entre 12:00 et 13:00).

Les présentations par affiche se tiendront au Hall d'honneur du pavillon Roger Gaudry (L-400) entre 15:00 et 17:30. Les participants sont tenus d'installer leurs affiches sur les babillards lors de l'inscription (entre 8:00 et 8:30). Les punaises ne seront pas fournies.

# Horaire de la Journée

**8h00-8h30: Accueil et inscriptions** (*Hall d'Honneur L-400*)

**8h30-8h40: Mot de bienvenue** (*Hall d'Honneur L-400*)

**8h40-9h55: Séance 1** (*M-415, Pavillon Roger-Gaudry*)

8h40-8h55: Zainab Aldbah, M.Sc, Labo Dr Ali Ahmad, Hôpital Ste-Justine

8h55-9h10: Sandra Liliana Cervantes, M.Sc, Labo Dr Nathalie Grandvaux, CRCHUM

9h10-9h25: Alexis Kafando, PhD, Labo Dr Cécile Tremblay, UdeM

9h25-9h40: Bita Khadivjam, M.Sc, Labo Dr Roger Lippé, UdeM

9h40-9h55: Marion Pardons, PhD, Labo Dr Nicolas Chomont, CRCHUM

**9h55-10h10: Pause-café** (*Hall d'Honneur L-400*)

**10h10-11h40: Séance 2** (*M-415, Pavillon Roger-Gaudry*)

10h10-10h25: Roxanne Collin, PhD, Labo Dr Sylvie Lesage, HMR

10h25-10h40: Mengqi Dong, M.Sc, Labo Dr Heather Melichar, UdeM

10h40-10h55: Frédéric Duval, PhD, Labo Dr Nathalie Labrecque, HMR

10h55-11h10: Thomas Fabre, PhD, Labo Dr Naglaa Shoukry, CRCHUM

11h10-11h25: Thomas Lejeune, PhD, Labo Dr Valérie Abadie, Hôpital Ste-Justine

11h25-11h40: Osama Kishta, Post-Doctorat, Labo Dr Jacques Thibodeau, UdeM

**11h40-12h40: Dîner** (*Hall d'Honneur L-400*)

**12h40-13h40: Séance 3** (*M-415, Pavillon Roger-Gaudry*)

12h40-12h55: Asmaa Agoussar, M.Sc, Labo Dr George Szatmari, UdeM

12h55-13h10: Karine Dufresne, PhD, Labo Dr France Daigle, UdeM

13h10-13h25: Imène Kouidmi, PhD, Labo Dr Catherine Paradis-Bleau, UdeM

13h25-13h40: Carolina Lazaro, Post-Doctorat, Labo Dr Patrick Hallenbeck, UdeM

**13h40-14h00 : Pause-café** (*Hall d'Honneur L-400*)

**14h00-15h00: Conférencier invité** (*M-415, Pavillon Roger-Gaudry*)

**Dr. Eric J. Arts, Western University**

**15h00-17h30: Session d'affiches** (*Hall d'Honneur L-400*)

**17h30: Remise des prix** (*Hall d'Honneur L-400*)

**17h45: Cocktail** (*Hall d'Honneur L-400*)

# Remerciements

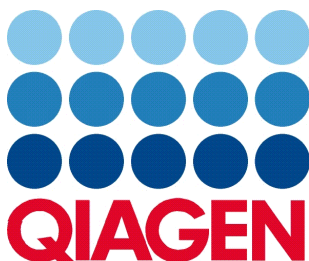
Le REMIC et le Département de microbiologie, infectiologie et immunologie de l'Université de Montréal aimeraient remercier personnellement ses commanditaires sans qui la tenue de cet événement n'aurait pas été possible:



Faculté de médecine  
Département de microbiologie, infectiologie et immunologie



**SIGMA-ALDRICH**



**8h40-9h55: Séance 1** (*M-415, Pavillon Roger-Gaudry*)

8h40-8h55: **Studies on interaction between extra-neural cholinergic system and HIV infection.**

Zainab Aldbah, M.Sc, Labo Dr Ali Ahmad, Hôpital Ste-Justine.

8h55-9h10: **Regulation of Respiratory Syncytial Virus infection by SQSTM1/p62.**

Sandra Liliana Cervantes, M.Sc, Labo Dr Nathalie Grandvaux, CRCHUM.

9h10-9h25: **Caractérisation moléculaire et phylogénétique de l'enveloppe du VIH-1 transmis/fondateur au Québec entre 1991 et 2015.**

Alexis Kafando, PhD, Labo Dr Cécile Tremblay, UdeM.

9h25-9h40: **Effect of human ATP-dependent RNA helicase DDX3X on herpes simplex type-1 (HSV-1) replication.**

Bitva Khadivjam, M.Sc, Labo Dr Roger Lippé, UdeM.

9h40-9h55: **Caractérisation des mécanismes moléculaires contribuant à la latence du VIH dans les sous-populations de lymphocytes T CD4+ mémoires.**

Marion Pardons, PhD. Labo Dr Nicolas Chomont, CRCHUM.

8h40-8h55: Zainab Aldbah, M.Sc, Labo Dr Ali Ahmad, Hôpital Ste-Justine

**Studies on interaction between extra-neural cholinergic system and HIV infection.**

The presence of the extra-neural cholinergic system (ENCS) in humans and animals is well established. Acetylcholine (ACh) is an evolutionarily conserved important neurotransmitter. However, it is also produced abundantly by non-neural cells. Both in humans and mice, CD4<sup>+</sup> T cells and gastro-intestinal tract epithelial cells constitute the main source of this molecule. Two main classes of the ACh receptors (AChR), nicotinic (n) and adrenergic (a), are expressed abundantly in immune cells and tissues in the body. The ENCS exerts profound effects on the functioning of the immune system. It modulates differentiation, proliferation and functioning of several types of immune cells. Presently, very little is known about the functioning of the ENCS in HIV infection. We show here for the first time that the viral infection increases the concentrations of ACh in the circulation of HIV-infected individuals, whereas anti-retroviral therapy (ART) tends to restore them to their physiological levels. We also found that the expression of the  $\alpha$ -7nAChR tended to decrease on CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells in the virus-infected individuals. Furthermore, the concentrations of SLURP-1 (Secreted Ly6/Urokinase type plasminogen activator Receptor-related Peptide-1), an allosteric ligand for the  $\alpha$ -7nAChR, was also increased in the circulation of HIV-infected individuals, and ART also tended to normalize them. We also investigated the effects of a synthetic  $\alpha$ -7nAChR agonist and a synthetic  $\alpha$ -7nAChR antagonist on the replication of a T-tropic HIV strain in human IL-2 and PHA-activated blasts. The agonist decreased, whereas the antagonist increased the viral replication in these cells. Taken together, these results suggest that the host tended to increase activity of the ENCS in an attempt to down-regulate

8h55-9h10: Sandra Liliana Cervantes, M.Sc, Labo Dr Nathalie Grandvaux, CRCHUM

**Regulation of Respiratory Syncytial Virus infection by SQSTM1/p62.**

Human respiratory syncytial virus (RSV) causes a high rate of morbidity and mortality worldwide in children, immunocompromised and elderly. There is an urgent need for novel efficient antiviral treatment and vaccine. Airway epithelial cells (AEC) are the primary target of RSV and constitute the first line of defense through distinct mechanisms, including cell autonomous antiviral response. The p62/SQSTM1 scaffold protein has multiple cellular functions including cell signaling and sequestration of specific ubiquitinated cargo (i.e. long-lived proteins/organelles and intracellular bacteria) for its clearance by autophagy. Previous published data highlighted an important role of p62 in the regulation of the replication of several viruses (i.e. influenza and Dengue) either promoting or restricting viral replication depending on the virus. The goal of our study is to determine the role of p62 in the regulation of RSV infection cycle. Methods and Results: Analysis of p62 expression in A549 cells showed that p62 is induced and phosphorylated at early times of RSV infection followed by degradation at late time points. Using p62 silencing by RNAi, we observed that p62 limits the de novo production of infectious RSV virions (plaque assay). Immunoblot analysis revealed a role of p62 in the intracellular expression of specific virus proteins. Studies are currently undertaken to determine the molecular mechanisms involved in p62-dependent regulation of RSV replication. In particular, we are interested in the link with autophagy that is triggered in response to RSV infection as observed using A549-LC3-RFP cells. Our results highlight a key role of p62 in the replication and spreading of RSV. These studies will

help define whether p62 might represent a potential therapeutic target to fight RSV infection.  
CD4 HP in GVHD hosts.

9h10-9h25: Alexis Kafando, PhD, Labo Dr Cécile Tremblay, UdeM.

### **Caractérisation moléculaire et phylogénétique de l'enveloppe du VIH-1 transmis/fondateur au Québec entre 1991 à 2015.**

Le VIH-1 Transmis/Fondateur (T/F) est un variant ou quasi-espèce virale capable d'établir efficacement l'infection virale au cours de la transmission. Il possède des déterminants génotypiques et/ou phénotypiques au niveau de son enveloppe. Une meilleure caractérisation de celle-ci permettrait d'identifier des facteurs moléculaires liés à la transmissibilité du virus mais aussi informerait les champs de recherche sur un vaccin anti-VIH-1 et à l'identification des réseaux de transmission du VIH-1. Dans cette étude nous nous sommes intéressés à identifier la variabilité génétique des séquences de l'enveloppe des virus T/F comparée aux chroniques, mais aussi, à établir des liens phylogénétiques entre les séquences des différents virus T/F de la province. Les spécimens de cette étude sont constitués de sérums rétrospectifs d'infections précoces de VIH-1 sous types B (stade Fiebig.2) du Québec entre 1991 et 2015. Sur 536 spécimens en stock, un échantillon représentatif de 112 spécimens a été inclus dans l'étude. L'analyse biologique a consisté à une amplification de l'enveloppe du VIH-1 par RT-PCR suivie d'une PCR nichée (3.10kb). Les produits PCR amplifiés (cDNA) ont été séquencés par la 2ème génération de séquençage(NGS) en utilisant l'appareil MiSeq d'Illumina. Les séquences de VIH-1 chroniques proviennent de la banque de séquences publiées dans la base de données de Los Alamos. Des signatures génétiques (mutations) ont été identifiées dans plusieurs sous régions de l'enveloppe du VIH-1, particulièrement au niveau de la gp120-V1 et gp41-CP des T/F. La longueur des sous régions gp120-V1-V2, spécifiquement la région gp120-V1 est plus courte chez les T/F comparée aux chroniques. Nous n'avons cependant pas identifié de différence pour ce qui est du nombre de site de N-glycosylation. Conclusions: Des analyses fonctionnelles prenant en compte les signatures génétiques identifiées permettraient non seulement de mieux comprendre les caractéristiques

9h25-9h40: Bitá Khadivjam, M.Sc, Labo Dr Roger Lippé, UdeM.

### **Effect of Human ATP-dependent RNA Helicase DDX3X On Herpes Simplex Type-1(HSV-1) Replication.**

The Alphaherpesvirus, Herpes simplex virus type-1 (HSV-1) causes vesicular oral and genital lesions, and has the ability to cause many severe diseases such as encephalitis, meningitis and , especially in immunocompromised individuals and neonates[1,2]. DDX3X is a DEAD-box ATP-dependent RNA helicase. This multifunctional protein participates in different stages of gene expression, such as mRNA maturation, transcription, mRNA export and translation. DDX3X has been shown to be involved in the replication of several viruses like HIV, Hepatitis B VIRUS (HBV) polymerase and possibly vaccinia virus (VACV) and hepatitis C virus (HCV). Our previous studies indicated that Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) incorporates this protein into its capsids and depleting the viral or cellular pool of DDX3X drastically impairs HSV-1 infectivity[4]. However, the exact role of DDX3X in HSV-1 replication cycle is not known. Here we sought to find the detailed interaction of DDX3X with virus. Using

Immunofluorescence we studied the subcellular localization of DDX3X in the absence or presence of viral infection. This localization studies were done in several time points during infection to see if it is different between early and late times. We overexpressed DDX3X (WT or mutant) and studied the effect on viral infectivity by using titration assays. Then we overexpressed or depleted DDX3X and studied the effect on viral gene expression by western blot. The effect of DDX3X depletion or overexpression on viral gene transcription will be studied by qPCR. In order to be able to find which viral proteins are interacting with DDX3X we will use MS/MS analysis through TAP-purification. In recent years scientists have shown interest in targeting cellular proteins as pharmacological strategies against viral infections. Shedding light on how DDX3X affects HSV-1 could turn it into an potential pharmacological target.

9h40-9h55: Marion Pardons, PhD. Labo Dr Nicolas Chomont, CRCHUM

### **Caractérisation des mécanismes moléculaires contribuant à la latence du VIH dans les sous-populations de lymphocytes T CD4+ mémoires.**

Le VIH persiste essentiellement dans 3 sous-populations de lymphocytes T CD4+ mémoires [centraux (TCM), transitionnels (TTM) et effecteurs (TEM)]. Compte tenu de leur diversité en termes de capacité proliférative et de potentiel de migration, nous émettons l'hypothèse que la latence du VIH résulte de mécanismes distincts dans ces 3 sous-populations cellulaires et que diverses stratégies de réactivation seront nécessaires pour réactiver le VIH latent dans ces 3 réservoirs. L'expression de facteurs cellulaires impliqués dans la latence du VIH a été mesurée par cytométrie en flux dans les TCM, TTM et TEM. Plus précisément, nous avons mesuré les niveaux (exprimés en MFI) des histones acétylées (H3K9, H4K5/8/12/16), de NFkB actif (pS529), et de P-TEFb (pS175 CDK9 et cycline T1) chez des individus VIH+ sous ART. Enfin, nous avons mesuré la capacité d'agents anti-latence (LRAs : HDACi, inducteurs de NFkB, inducteurs de P-TEFb) à moduler ces facteurs. La stimulation des PBMCs par des doses croissantes d'HDACi (SAHA, Panobinostat, Romidepsine) induit une augmentation dose-dépendante de l'acétylation des histones H3 et H4 dans toutes les sous-populations de lymphocytes T CD4+. Par ailleurs, les TCM, TTM et TEM répondent de façon similaire aux différents HDACi testés, bien qu'il existe une certaine variabilité inter-individuelle. Enfin, les inducteurs de NFkB (PMA, Bryostatine, Prostratine) et de P-TEFb (CD3/CD28) induisent une plus forte réponse dans les TCM par rapport aux sous-populations cellulaires les plus différenciées (TTM et TEM). Bien que les HDACi semblent induire une réponse similaire dans les 3 sous-populations de lymphocytes T CD4+ mémoires, les inducteurs de NFkB et de P-TEFb ont une activité plus prononcée dans les cellules TCM. Ces observations présentent des implications dans le développement de stratégies thérapeutiques visant à éliminer les réservoirs latents du VIH, puisqu'elles suggèrent que certains LRAs exercent des activités différentes dans des réservoirs cellulaires distincts.



**10h10-11h40: Séance 2 (M-415, Pavillon Roger-Gaudry)**

**10h10-10h25: Étude d'une rare population de lymphocytes T CD4-CD8- dans un modèle murin de prédisposition au diabète auto-immun.**

Roxanne Collin, PhD, Labo Dr Sylvie Lesage, HMR.

**10h25-10h40: Differences in T-Cell Positive Selection in Neonates and Adults: Causes and Consequences.**

Mengqi Dong, M.Sc, Labo Dr Heather Melichar, UdeM.

**10h40-10h55: THE NOTCH SIGNALLING PATHWAY AS A NEW MASTOR REGULATOR OF CD8 T CELL DIFFERENTIATION.**

Frédéric Duval, PhD, Labo Dr Nathalie Labrecque, HMR.

**10h55-11h10: Mécanisme immunitaire de la progression de la fibrose hépatique : implication des cytokines de type Th17.**

Thomas Fabre, PhD, Labo Dr Naglaa Shoukry, CRCHUM.

**11h10-11h25: Implication de l'interleukine-15 dans la régulation des réponses immunitaires humorales.**

Thomas Lejeune, PhD, Labo Dr Valérie Abadie, Hôpital Ste-Justine.

**11h25-11h40: Role of E3 Ubiquitin Ligase (MARCH1) in Murine Model of Allergic Inflammation.**

Osama Kishta, Post-Doctorat, Labo Dr Jacques Thibodeau, UdeM

10h10-10h25: Roxanne Collin, PhD, Labo Dr Sylvie Lesage, HMR

### **Étude d'une rare population de lymphocytes T CD4-CD8- dans un modèle murin de prédisposition au diabète auto-immun**

Plusieurs sous-types de lymphocytes T immuno-régulateurs jouent un rôle dans le maintien de la tolérance immunitaire, prévenant ensemble le développement de maladies auto-immunes. Notre équipe s'intéresse particulièrement aux cellules T CD4-CD8- (DN), un sous-type de cellules régulatrices retrouvées en périphérie. Ces cellules seront ci-après dénommées cellules DN T périphériques (pDN T), par opposition aux thymocytes DN immatures. Notre laboratoire a précédemment montré qu'une diminution du nombre de cellules pDN T s'associe à la prédisposition au diabète de type 1 et qu'une seule injection de pDN T parvient à prévenir le développement du diabète de type 1. Cependant, malgré l'importance des cellules pDN T dans la tolérance immunitaire, leur origine et les signaux nécessaires à leur développement et fonction sont jusqu'à présent inconnus. Les cellules pDN T pourraient se développer par une voie extra-thymique, une voie intra-thymique, ou encore être le résultat d'une perte de l'expression des corécepteurs CD4 ou CD8 sur des cellules T conventionnelles matures. Afin de tester l'hypothèse d'une origine thymique des cellules pDN T, nous exploitons des cultures de thymus fœtaux injectés avec divers progéniteurs thymiques. Nous prenons aussi avantage du modèle de souris rapporteur RAG-GFP, permettant de suivre les cellules ayant récemment émigré du thymus. Nous montrons que des cellules DN T matures se développent dans le thymus et qu'au moins certaines cellules pDN T originent du thymus. La suite de nos travaux exploitera divers modèles de souris rapporteurs afin de définir la voie de différenciation produisant des cellules pDN T fonctionnelles. Ensemble, nos résultats pourraient ultimement permettre la manipulation de cellules pDN T in vivo afin de prévenir l'auto-immunité.

10h25-10h40: Mengqi Dong, M.Sc, Labo Dr Heather Melichar, UdeM

### **Differences in T-Cell Positive Selection in Neonates and Adults: Causes and Consequences**

Neonatal T cells differ from their adult counterparts in that they are skewed toward increased inflammatory responses and reduced memory T cell generation. There is evidence that cell-intrinsic differences contribute to this phenomenon, but the factors involved remain unknown. Recent studies have suggested that the strength of T cell receptor (TCR) binding to self-antigen impacts primary vs. recall responses. Thus, we sought to determine differences in the strength of TCR signals during positive selection in neonates and adults. We found that polyclonal neonatal murine thymocytes and peripheral T cells expressed significantly higher levels of CD5 as compared to adults, and that these differences in CD5 were also evident in recent thymic emigrants and naïve T cells in human cord blood and peripheral blood mononuclear cells. Further, the increased affinity for self-antigen was sufficient to impart neonatal murine T cells with more robust homeostatic proliferation potential in a lymphopenic environment. To determine the extent to which these differences reflect the distinct, less diverse TCR repertoire in neonates, we re-examined the strength of positive selection signals in Tdt<sup>-/-</sup> and TCR transgenic mice. Interestingly, there are no differences in CD5 levels between WT and Tdt<sup>-/-</sup> adult T cells and fixing the TCR did not normalize the strength of signals during positive selection between neonates and adults. These data suggest that the differences in TCR signal strength during development are governed by cell-

extrinsic factors, and further determination of these factors will aid us in better understanding the differences in the neonatal immune system that lead to increased infection-related mortality and morbidity in this population.

10h40-10h55: Frédéric Duval, PhD, Labo Dr Nathalie Labrecque, HMR

### **THE NOTCH SIGNALLING PATHWAY AS A NEW MASTOR REGULATOR OF CD8 T CELL DIFFERENTIATION.**

Following an infection, naïve CD8 T cells expand and differentiate into effectors able to eliminate the pathogen. At the peak of the response, two major populations of effectors are distinguishable: short-lived effector cells (SLECs) meant to die by apoptosis and memory precursor effector cells (MPECs) destined to survive as memory cells that confer long-term protection. We postulated that the Notch signalling pathway, known for its role in cellular differentiation and binary cell fate choice, acts as a key player in the MPEC/SLEC differentiation choice. To elucidate the role of Notch signalling, we have analyzed CD8 T cell response in mice lacking or not the expression of Notch1 and Notch2 in mature CD8 T cells. Following infection with *Listeria* or vaccination with antigen-pulsed dendritic cells, Notch deficiency drastically diminished SLEC generation without impairing CD8 memory T cell generation. Interestingly, altered SLEC differentiation occurs despite normal expression of the transcription factors, T-bet and Blimp-1, known to be necessary for SLEC differentiation. Moreover, the reduced generation of SLECs in absence of Notch signalling correlated with defective expression of CD25 by effectors. However, restoration of CD25 expression in Notch1/2-deficient T cells did not correct SLEC differentiation. These results suggest that Notch regulates the expression of new players involved in SLEC differentiation. The identification of the genes regulated by Notch should help to reveal its role in CD8 T cell response.

10h55-11h10: Thomas Fabre, PhD, Labo Dr Naglaa Shoukry, CRCHUM

### **Mécanisme immunitaire de la progression de la fibrose hépatique : implication des cytokines de type Th17.**

Activation of hepatic stellate cells (HSCs) is a key event in the initiation of liver fibrosis. CD4 T cells can modulate positively or negatively this process. We and others have demonstrated that IL-17A produced by Th17 cells has pro-fibrogenic properties as it promotes activation of HSCs via different mechanisms. Th17 cells also produce IL-22, an enigmatic cytokine with proinflammatory and hepatoprotective properties. In addition, IL-10 produced by regulatory T cells (Treg) negatively modulates activation of HSCs. We hypothesized that liver fibrosis progression results from an alteration in the Th17/Treg ratio leading to an imbalance in the pro-fibrotic cytokine profile within the liver. We examined *ex vivo* the frequency of Th17 and Treg populations and the cytokine profile of intrahepatic lymphocytes isolated from liver biopsy samples (n=30). We observed increased Th17/Treg ratio in advanced (F4, Metavir) as compared to moderate or non-fibrosis (F0-F2). Furthermore, we observed a bias towards Th17/Th9 cytokine profile in fibrotic livers with viral-hepatitis, whereas the cytokine profile was Th17/Th2 in non-viral hepatitis. All biopsies exhibited a 5-fold increase in IL-22 in fibrotic livers (p=0.0082) irrespective

of aetiology. In vitro stimulation of primary human HSCs with IL-22 sensitized them to suboptimal doses of TGF- $\beta$ . RNA-seq analysis demonstrated activation of p38 in HSCs in response to IL-22 and chemical inhibition of p38 suppressed the pro-fibrogenic effect of IL-22. Our results suggest a dysregulated Th17/Treg ratio in advanced fibrosis coupled with distinct cytokine profile dependant on the aetiology of liver disease. Finally, we have identified IL-22 as a common factor in advanced liver fibrosis acting through sensitization of HSCs to TGF- $\beta$  in a p38-dependent manner.

11h10-11h25: Thomas Lejeune, PhD, Labo Dr Valérie Abadie, Hôpital Ste-Justine

### **Implication de l'interleukine-15 dans la régulation des réponses immunitaires humorales.**

Les centres germinatifs constituent un microenvironnement spécialisé des follicules B des organes lymphoïdes secondaires et au sein duquel les lymphocytes B interagissent avec les antigènes, les cellules dendritiques et les lymphocytes T folliculaires helper (TFH) pour induire des réponses immunitaires humorales thymodépendantes. Les réponses immunitaires au niveau des centres germinatifs permettent ainsi la production d'anticorps de forte affinité jouant un rôle essentiel dans la défense de l'hôte et dans la tolérance immunitaire du soi. A l'opposé, la dérégulation des réponses immunitaires au niveau des centres germinatifs peut conduire à la sélection aberrante de lymphocytes B auto-réactifs et à la production d'auto-anticorps, et ainsi au développement de l'auto-immunité. Parallèlement, bien que l'interleukine 15 (IL-15) exerce de nombreuses fonctions dédiées au maintien de l'homéostasie du système immunitaire, sa surexpression a été observée dans de nombreuses maladies inflammatoires et auto-immunes, où elle contribue à la pathogénèse en altérant des mécanismes régulateurs essentiels. Cependant, la contribution de l'IL-15 dans la dérégulation des réponses immunitaires au niveau des centres germinatifs n'a pas encore été investiguée. En utilisant des souris transgéniques sur-exprimant l'IL-15 (IL-15tg), nous avons observé une altération de la composition en lymphocytes B spléniques et en lymphocytes TFH dans les centres germinatifs de souris sur exprimant l'IL-15 après administration d'un antigène modèle T-dépendant (OVA-NP) par voie intrapéritonéale. Néanmoins, la production d'anticorps est plus élevée dans les souris IL-15tg en comparaison avec les souris sauvages, ce qui suggère que, dans un environnement riche en IL-15, les anticorps pourraient être produits dans des sites extra folliculaires. Ce projet nous permet d'accroître nos connaissances sur la contribution de l'IL-15 dans la dérégulation des réponses immunitaires humorales et d'évaluer l'impact de sa surexpression sur le développement d'auto-anticorps qui sont caractéristiques des maladies auto-immunes.

11h25-11h40: Osama Kishta, Post-Doctorat, Labo Dr Jacques Thibodeau, UdeM

### **Role of E3 Ubiquitin Ligase (MARCH1) in Murine Model of Allergic Inflammation.**

Allergic asthma is a complex multifactorial inflammatory disease, characterized by Th2-skewed immune response. Since no cure for this disease is reached to date, suppression of lung inflammation is a valid strategy to manage this disease. E3 ubiquitin ligase membrane-associated ring-CH1 (MARCH1) is an anti-inflammatory molecule, studied in our laboratory and known to ubiquitinate and degrade MHC II and CD86 molecules, which are expressed on antigen presenting cells (APCs) and involved in the

immune aspects of allergic etiology. We hypothesize that MARCH1 attenuates allergic inflammatory response by regulating antigen presentation by APCs and/or altering the phenotype of certain inflammatory cell populations. Age matched female C57BL/6 and MARCH1KO mice were sensitized i.p. with ovalbumin (OVA) in saline complexed with Alum. hydroxide or sham-sensitized with saline only (control) on day 0, 7. All the groups were challenged by intranasal instillation of 50 µg OVA in saline on day 19-22 and studied 24 hrs later. Lung and blood inflammatory cells were studied by FACS staining. Splenocytes were cultured with OVA and cytokines were measured 2 days later. Our preliminary results show that IL-4 and IL-5 (Th2 cytokines) tended to be higher in lung CD4<sup>+</sup> T cells of sensitized and challenged (ova/ova group) of MARCH1 KO mice compared to WT. Further, level of IL-4 was higher in culture of splenocytes from MARCH1 KO (ova/ova) compared with the correspondent WT group, whereas IFN-γ and IL-10 in WT (ova/ova) group were higher relative to their level in MARCH1 KO. B lymphocytes in the lungs of ova/ova group were higher than their level in sal./ova controls within MARCH1 KO groups but not WT groups. In blood, lower T lymphocytes in MARCH1 KO (ova/ova) were observed compared to WT littermates suggesting more recruitment to the lung. Deficiency of MARCH1 leads to immune modulation of allergic inflammation that ends up with more skewing to Th2 immune response and more inflammatory B and T lymphocyte recruitment to the lung. Work is currently underway in our laboratory to further characterize and delineate role of MARCH1 in the context of allergic inflammation and etiology.

**12h40-13h40: Séance 3** (*M-415, Pavillon Roger-Gaudry*)**12h40-12h55: Bioremediation: Microbiologie des pesticides en milieux agricoles.**

Asmaa Agoussar, M.Sc, Labo Dr George Szatmari, UdeM

**12h55-13h10: Expression et régulation des opérons fimbriaires chez Salmonella enterica sérovar Typhi et leur implication dans la pathogenèse.**

Karine Dufresne, PhD, Labo Dr France Daigle, UdeM

**13h10-13h25: Étude de la fonction du facteur ElyC via la caractérisation des deux supresseurs génétiques DsbG et Spy.**

Imène Kouidmi, PhD, Labo Dr Catherine Paradis-Bleau, UdeM

**13h25-13h40: Improving the Production of Hydrogen through the use of Metabolic Engineering and Microaerobic Dark Fermentation.**

Carolina Lazaro, Post-Doctorat, Labo Dr Patrick Hallenbeck, UdeM

12h40-12h55: Asmaa Agoussar, M.Sc, Labo Dr George Szatmari, UdeM

### **Bioremédiation: Microbiologie des pesticides en milieux agricoles.**

Au Québec, les cultures maraichères occupent environ 31705 hectares ou 50914 hectares si on compte les superficies de pommes de terre. En plus des fertilisants, plusieurs pesticides sont utilisés dans ces cultures, ces produits qui jouent un rôle important pour le succès des productions agricoles, représentent ainsi des risques pour la santé humaine et l'environnement. Parmi les effets secondaires de l'utilisation des pesticides, on compte la contamination des eaux souterraines et de surface, cette contamination est plus susceptible de provenir de sources ponctuelles. Selon des études faites au Québec en 2001, 49% des puits privés situés à proximité des champs de culture de pommes de terre ont été échantillonnés et détecté contaminé par les pesticides. La bio-remédiation est définie comme le processus par lequel les déchets organiques sont biologiquement dégradés dans des conditions contrôlées par des microorganismes ou leurs enzymes. L'hypothèse: la contamination répétée des sols aux pesticides stimule naturellement le développement des microorganismes capables de les dégrader, ces microorganismes acquièrent les gènes codant les enzymes responsables de la dégradation des pesticides. L'objectif de ce projet de recherche est de comprendre et d'identifier les variables microbiologiques responsables de la dégradation des pesticides lors du processus de bio-remédiation/bio-filtration. Tandis que les objectifs spécifiques sont:

1. D'identifier et isoler les microorganismes impliqués dans la dégradation des pesticides;
2. De confirmer in vitro (sur milieu de culture) leur capacité à dégrader les pesticides;
3. De confirmer in situ le potentiel d'inoculation du bio-filtre dans la ferme.

12h55-13h10: Karine Dufresne, PhD, Labo Dr France Daigle, UdeM

### **Expression et régulation des opérons fimbriaires chez *Salmonella enterica* sérovar Typhi et leur implication dans la pathogénèse**

*Salmonella enterica* serovar Typhi, pathogène humain causant la fièvre entérique, est responsable d'environ 17 millions des cas de salmonellose et 500 000 décès à travers le monde annuellement. *S. Typhi* possède 14 systèmes fimbriaires impliqués dans l'interaction avec l'hôte. Ces opérons sont peu caractérisés. Les fimbriae sont divisés en trois catégories: curli (*csg*), de type IV (*pil*) ou chaperon/placier (*sta*, *stb*, *stc*, *std*, *ste*, *stg*, *sth*, *saf*, *sef*, *fim*, *bcf* et *tcf*). Le but de mon projet est de caractériser les opérons fimbriaires retrouvés chez *S. Typhi*. Nous étudierons le niveau d'expression des 14 opérons fimbriaires chez *S. Typhi* ISP1820 (souche sauvage) en différentes conditions de laboratoire à l'aide d'une fusion promoteur fimbriaire à *lacZ*. L'expression des opérons fimbriaires sera aussi testé en conditions d'infection de cellules INT-407 et de macrophages THP-1 à l'aide d'une fusion promoteur à *gfp*. L'activité de chaque promoteur sera déterminée par cytométrie en flux. Par la suite, nous déterminerons la morphologie des fimbriae de type chaperon-placier en fusionnant l'opéron complet de chacun au promoteur lac. Nous pourrons ainsi induire la production des protéines fimbriaires et visualiser la structure du fimbria par microscopie électronique. Finalement, nous déterminerons l'impact de chaque fimbria sur l'infection de cellules humaines de deux façons. En premier lieu, nous utiliserons des souches dérivant de ISP1820 dont chaque opéron fimbriaire a été délété individuellement. D'un autre côté, nous ajoutons, à une souche afimbriaire dérivée de ISP1820, chaque opéron fimbriaire avec leur promoteur natif. L'absence ou la présence d'un opéron nous indiquera son rôle dans les étapes d'infection par comparaison à la souche sauvage. La caractérisation des fimbriae de *S. Typhi* permettra d'approfondir nos connaissances face à son interaction hôte-pathogène. Ces connaissances pourraient mener à la création de vaccins plus efficaces contre ce pathogène en visant les protéines fimbriaires exprimées sous conditions similaires à celles retrouvées chez l'hôte.

13h10-13h25: Imène Kouidmi, PhD, Labo Dr Catherine Paradis-Bleau, UdeM

### **Étude de la fonction du facteur ElyC via la caractérisation des deux supresseurs génétiques DsbG et Spy.**

Le peptidoglycane (PG) est la principale structure de l'enveloppe bactérienne qui protège la bactérie contre le stress osmotique. Afin de mieux comprendre le mécanisme de biosynthèse du PG, nous nous sommes intéressés à l'étude de la fonction d'un nouveau facteur important à la biosynthèse du PG chez *Escherichia coli*, ElyC. Le mutant  $\Delta$ elyC présente un arrêt de la biosynthèse du PG à température pièce ce qui entraîne la lyse du mutant. De plus, le facteur ElyC possède un domaine de fonction inconnue (DUF218) très conservé à travers les espèces bactériennes, ce domaine est prédit comme étant dans le périplasma; le compartiment dans lequel se déroule l'assemblage du PG. Dans le but de caractériser la fonction du facteur ElyC, nous avons tenté d'identifier des supresseurs génétiques du phénotype de lyse du mutant  $\Delta$ elyC par une approche par candidats. Ceci nous a permis de démontrer qu'une surexpression de la protéine périplasmique DsbG dans le mutant  $\Delta$ elyC induit la suppression du phénotype de lyse. DsbG est une réductase périplasmique qui protège contre l'oxydation des protéines de la famille des L,D-transpeptidases. Cependant, nous avons démontré que DsbG supprime la lyse chez le mutant  $\Delta$ elyC indépendamment de son activité réductase et de ses partenaires protéiques connus. Nous avons donc émis l'hypothèse que DsbG agit par son activité chaperonne qui a déjà été démontrée *in vitro*. Cela nous a mené à tester l'effet de suppression d'autres chaperonnes et protéines responsables du repliement dans le cytoplasme et le périplasma. Nous avons ainsi identifié la chaperonne périplasmique Spy comme un autre supresseur multi-copie du phénotype de lyse du mutant  $\Delta$ elyC. Les deux supresseurs, *dsbG* et *spy* semblent aussi rétablir la biosynthèse du PG chez le mutant  $\Delta$ elyC d'une manière partielle ou totale, respectivement. Nous procédons actuellement à l'identification de(s) substrat(s) protéique(s) de DsbG et Spy chez le mutant  $\Delta$ elyC qui sont probablement un ou plusieurs facteurs importants à la biosynthèse du PG, et dont le repliement est affecté par l'absence du facteur ElyC.

13h25-13h40: Carolina Lazaro, Post-Doctorat, Labo Dr Patrick Hallenbeck, UdeM

### **Improving the Production of Hydrogen through the use of Metabolic Engineering and Microaerobic Dark Fermentation.**

The increasing demand for energy sources has encouraged studies on biological H<sub>2</sub> production which offer advantages over chemical processes. A wide diversity of microorganisms can produce H<sub>2</sub> through fermentative metabolism (dark fermentation) and photo-fermentation. In dark fermentation, bacteria as *Clostridium* and *Enterobacter* produce H<sub>2</sub> by consuming sugars and producing organic acids. Photosynthetic microorganisms, such as *Rhodobacter* and *Rhodospseudomonas* are able to produce H<sub>2</sub> through photo-fermentation in the light consuming organic acids and producing H<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub>. The main drawback of the process is its low efficiency. The H<sub>2</sub> yield that can be theoretically achieved by dark fermentation is limited to 4 moles H<sub>2</sub> per mole of glucose, whereas this value would be as high as 12 moles H<sub>2</sub> per mole of glucose if the substrate could be completely oxidized. Low yields occur in practice because the cell needs to maintain a balanced redox potential and thus reduced compounds are produced. The maintenance of the redox potential to allow complete oxidation of the organic compounds can be achieved by the introduction of O<sub>2</sub> into the bioreactor. However, the O<sub>2</sub> supply should be carefully controlled since H<sub>2</sub> production is mediated by enzymes extremely sensitive to O<sub>2</sub> and excess of it would also result in loss of substrate. Another alternative for increasing the H<sub>2</sub> yield is metabolic engineering through gene knockouts. Acetic acid is often reported as the main fermentation metabolite. Thus, the



knockout of this metabolic pathway is an interesting approach to increasing the H<sub>2</sub> yield. Thus, the aim of the present study is to improve the H<sub>2</sub> yield by photosynthetic microorganism using two different approaches: (1) genetic manipulation of *R. capsulatus* to knock-out the *pta/ackA* gene and (2) physiological manipulation by cultivating *R. capsulatus* under microaerobic dark conditions. The effect of several parameters (carbon source, nitrogen and carbon concentration, oxygen concentration) on microaerobic dark H<sub>2</sub> production has been evaluated and the preliminary results are very encouraging.

**14h00-15h00: Conférencier invité, Dr. Eric J. Arts**

*(M-415, Pavillon Roger-Gaudry)*

**HIV pathogenesis, treatment, and cure: What does it all mean?**

Eric J. Arts,

Professor of Medicine, Case Western Reserve University  
Director, Uganda Core Lab, Center for AIDS Research  
Division of Infectious Diseases & HIV Medicine

Following the zoonotic jump from chimps into humans, HIV-1 evolution was likely shaped by divergence during adaptation of HIV to each human host and to escape immune response while maintaining efficient transmission. In this talk, I will describe how differences in HIV virulence is shaping our global epidemic and treatment outcomes. How the fitness cost of immune escape in the infecting HIV can ultimately impact virulence in the human population. Finally, I will provide a « picture » on the future of the HIV-1 epidemic with or without comprehensive treatment campaigns.

**15h00-17h30: Session d'affiches et cocktail** (*Hall d'Honneur L-400*)

### **Bloc A**

**A1- Étude des effets de l'initiation précoce du traitement sur la réactivité immunitaire et la réponse vaccinale chez l'enfant infecté par le VIH-1.**

Hinatea Dieurmegard et Hugo Soudeyns, Hôpital Ste-Justine.

**A2- Étude de l'immunité innée chez les femmes béninoises hautement exposées au VIH-1 séronégatives (HESN) et séropositives.**

Lyvia Fourcade et Michel Roger, CRCHUM.

**A3- Évolution du virus de l'hépatite C (VHC) pendant la grossesse et complexité des mécanismes impliqués dans la transmission mère-enfant du VHC.**

Ariane Larouche et Hugo Soudeyns, Hôpital Ste-Justine.

**A4- Élaboration d'un test pour mesurer la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) spécifique au virus de l'hépatite C (VHC).**

Kimberly Ann Milton McSween et Hugo Soudeyns, Hôpital Ste-Justine.

**A5- Rôle du domaine interne de la gp120 du VIH-1 dans l'interaction avec son récepteur CD4 et ses changements conformationnels.**

Jérémie Prévost et Andrès Finzi, CRCHUM.

**A6- Profil des sous-populations lymphocytaires B et réponses vaccinales chez les enfants exposés non-infectés (ENI) par le VIH-1.**

Laurence Raymond Marchand et Hugo Soudeyns, Hôpital Ste-Justine.

**A7- Paramètres de la protection immunitaire à long terme chez les individus exposés mais non-réinfectés par le virus de l'hépatite C.**

Asiyah Siddique et Naglaa Shoukry, CRCHUM.

### **Bloc B**

**B1- Impact de l'interleukine-27 sur les cellules T CD8 humaines dans le contexte de la sclérose en plaques.**

Marie-Laure Clenet et Nathalie Arbour, UCRCHUM.

**B2- Regulation of T cell activation by plasma membrane phosphatidylserine.**

Audrey Connolly et Étienne Gagnon, IRIC.

**B3- Le rôle de l'ubiquitine ligase MARCH1 dans le développement du cancer.**

Auriane de Montigny et Jacques Thibodeau, UdeM.

**B4- Rôle des lymphocytes Th17 dans la fibrose hépatique et le développement de carcinome hépatocellulaire.**

Manuel Flores Molina et Naglaa Shoukry, CRCHUM.

**B5- Determining the therapeutic potential of blocking CD271 to promote tumor-specific T cell responses.**

Charles-Étienne Lebert-Ghali et Heather Melichar, UdeM.

**B6- Role of march1 dans l'obésité et le diabète types 2.**

Abdelilah Madjoubi et Jacques Thibodeau, UdeM.

**B7- INTERLEUKIN-7 PRODUCTION BY DENDRITICS CELLS IS CRITICAL FOR NEGATIVE SELECTION OF CD4+ T IN THE THYMUS.**

Moutuaata Mohamed Moutuou et Martin Guimond, HMR.

**B8- Role of MARCH1 in the homeostasis, the development and the activation of B cells and its effects on Leishmania donovani infections.**

Maxime Raymond et Jacques Thibodeau, UdeM.

**B9- La régulation du métabolisme cellulaire par l'E3 ubiquitine ligase MARCH-1.**

Antoine Sabourin et Jacques Thibodeau, UdeM.

### **Bloc C**

**C1- Bim est un gène candidat dans la régulation de la proportion des cellules dendritiques mérocytiques.**

Cindy Audiger et Sylvie Lesage, HMR.

**C2- Improvement of biological H2 production.**

Khorcheska Batyrova et Patrick Hallenbeck, UdeM.

**C3- Site-specific recombination in Streptococcus suis.**

Fabio Andres Castillo Martinez, Amal Benmohamed et George Szatmari, UdeM.

**C4- Rôle des topoisomérases de type 1A dans la stabilité du génome chez E. coli.**

Makisha Martel et Marc Drolet, UdeM.

**C5- Contrôle circadien de la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T CD8.**

Chloé Nobis et Nathalie Labrecque, HMR.

**C6- Rôle du facteur de transcription NR4A3 dans l'activité métabolique et la fonction des lymphocytes T CD8.**

Livia Odagiu et Nathalie Labrecque, HMR.

**C7- Prévalence, importance clinique et résistance aux triazolés chez les isolats d'Aspergillus section Fumigati cryptiques : Une étude dans un hôpital montréalais de 2000 à 2013.**

Maxime Parent-Michaud, Louis De Repentigny et Simon F. Dufresne, UdeM.

**C8- Optimization of Process Variables in Fermentative Hydrogen Production.**

Zeynep Yilmazer Hitit et Patrick Hallenbeck, UdeM.

**A1- Étude des effets de l'initiation précoce du traitement sur la réactivité immunitaire et la réponse vaccinale chez l'enfant infecté par le VIH-1.**

Hinatea Dieurmegard et Hugo Soudeyns, UdeM.

Absence of detectable cell-mediated immune responses to HIV-1 is a recurring finding in early-treated HIV-1 vertically-infected children in whom sustained viral suppression is achieved and maintained for an extended period. It has been assumed that levels of viral antigens were too low to trigger or maintain HIV-1-specific immune responses. However, re-emergence of these responses following viral rebound is well documented. Here, IFN- responses were measured in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from 4 early-treated vertically-infected children with long-term sustained viral suppression (SVS) (Bitnun et al., Clin Infect Dis 59: 1012-1019, 2014). PBMC were obtained from 4 children who were initiated on combination antiretroviral therapy (cART) within 72 hours of birth and achieved SVS (HIV-1 viral load <50 copies/mL). At the time of blood sampling, virologic suppression had been maintained for 3.9 to 8.1 years. IFN- production in response to HIV-1 clade-matched peptide pools were measured using ELISpot. PBMC from HIV-uninfected subjects and a HIV clade C-infected adult without SVS (140,573 copies/mL) were used as controls. ELISpot positivity was defined according to standard criteria (>50 spot-forming units [SFU] per 106 cells and >2 SD over negative controls). Low-level HIV-specific IFN- responses were detected in all 4 children but not in HIV-uninfected controls. Responses ranged from 0 SFU to 165 SFU/106 PBMC in Cases, substantially lower than clade-matched IFN- responses measured in the control subject without long-term SVS (0-1858 SFU/106 PBMC) and significantly lower than anti-CD3, CMV-specific and VZV-specific responses. Low but significant frequencies of cells producing IFN- in response to stimulation with HIV-1 clade-matched peptides were detected in early cART-treated children with SVS under cART thereafter. These responses may be contributing to long-term control of HIV replication in vertically-infected children, and these dynamics of host-pathogen interaction may qualitatively or quantitatively differ from those observed in HIV-infected adults.

**A2- Étude de l'immunité innée chez les femmes béninoises hautement exposées au VIH-1 séronégatives (HESN) et séropositives.**

Lyvia Fourcade et Michel Roger, UdeM.

La majorité des infections par le VIH sont acquises de façon hétérosexuelle, et touchent majoritairement des femmes, surtout en Afrique subsaharienne. L'équipe du Dr Roger a recruté un groupe de travailleuses du sexe (TS) hautement exposées au VIH, au Bénin, dans lequel ont été identifiées des femmes dites « résistantes », qui ne deviennent pas infectées par le virus. Comprendre comment le système immunitaire prévient ou facilite l'infection au VIH suggère l'étude de facteurs immunitaires et génétiques de l'hôte qui confèrent un certain niveau de protection, et a d'importantes implications dans la mise en œuvre de méthodes d'intervention (microbicide et vaccin). Nous proposons de travailler avec des spécimens provenant de la cohorte béninoise et groupe de femme contrôle de la population générale. Des questionnaires sur les facteurs de risque et des spécimens sanguins et génitaux ont été récoltés et conservés à chaque visite. Le projet vise particulièrement à définir le rôle des leucocytes dans la modulation de la réponse immune contre le VIH au niveau du tractus génital et du sang périphérique. L'étude de polymorphismes génétiques sera complémentaire. Il est possible d'envisager que

l'identification de facteurs de l'hôte associés à la protection ou la facilitation de la transmission du VIH pourront mener au développement de stratégies préventives ou thérapeutiques.

### **A3- Évolution du virus de l'hépatite C (VHC) pendant la grossesse et complexité des mécanismes impliqués dans la transmission mère-enfant du VHC.**

Ariane Larouche et Hugo Soudeyns, UdeM.

La coinfection par le VHC et le VIH-1 est courante. Le VHC existe chez son hôte sous forme de quasiespèce, la majeure partie de la variabilité se retrouvant au niveau de la protéine d'enveloppe E2. Chez la femme enceinte, les pressions sélectives exercées sur E2 visent des régions exposées en surface, suggérant l'implication de la réponse humorale. Les objectifs de l'étude sont de déterminer si l'évolution de la quasiespèce est associée à la réponse humorale maternelle et d'évaluer l'impact de la coinfection de la mère avec le VIH-1 sur la transmission mère-enfant (TME) du VHC. Pour ce faire, des échantillons sériques de femmes enceintes infectées par le VHC seulement (mono-infections; n=17) ou coinfectées par le VHC et le VIH-1 (coinfections; n=20) furent prélevés pendant les 3 trimestres de gestation et en post-partum. L'ARN du VHC a été amplifié par RT-PCR et traité par séquençage à haut débit (Roche 454). Les fréquences relatives des différentes variantes protéiques d'E2 ont servi à calculer la distance UniFrac entre les échantillons et l'indice de diversité de Shannon. Cette analyse a révélé que l'évolution de la quasiespèce était plus lente chez la femme coinfectée par le VIH-1. Dans le groupe infecté par le VHC seulement, une baisse de la charge virale VHC entre le 3ème trimestre et le post-partum a été observée qui n'était pas présente chez les femmes coinfectées (p=0.0485). Enfin, des valeurs de diversité faibles durant la grossesse ont été associées à un risque significativement plus élevé de TME du VHC dans le groupe mono-infecté (p=0.0024; OR=29.86) mais pas chez les femmes coinfectées. Ces résultats suggèrent que la diversité de la quasiespèce du VHC et la coinfection par le VIH augmentent les risques de transmission du VHC de la mère à l'enfant, mais le font à travers des mécanismes indépendants dont certains sont de nature immunitaire. Ces résultats ouvrent la voie à une compréhension nouvelle des mécanismes impliqués dans la TME du VHC.

### **A4- Élaboration d'un test pour mesurer la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) spécifique au virus de l'hépatite C (VHC).**

Kimberly Ann Milton McSween et Hugo Soudeyns, UdeM.

Plus de 170 millions d'individus dans le monde sont infectés par le VHC. Pour des raisons mal comprises, la charge virale du VHC augmente au 3ème trimestre de grossesse, décroît après l'accouchement, et la pathologie hépatique s'aggrave. Notre hypothèse est que l'ADCC, un processus lors duquel des anticorps dirigent des cellules effectrices vers des cellules-cibles exprimant un antigène donné, est impliqué dans la modulation de la pathogenèse de l'hépatite C en grossesse. Nous caractériserons l'ADCC chez un groupe de femmes enceintes infectées par le VHC au moyen d'échantillons de sérum obtenus de ces patientes, d'un test d'ADCC faisant usage de cellules-cibles résistantes à l'activité NK (CEM-NK<sub>r</sub>) et de cellules effectrices issues de donneurs sains. Les CEM-NK<sub>r</sub> seront modifiées pour exprimer les protéines E1 et E2 du VHC à leur surface. La lecture du test d'ADCC sur les CEM-NK<sub>r</sub> sera basée sur la perte de coloration vitale en cytométrie en flux. E1 et E2 ont été clonés en aval du promoteur CMV pour générer des particules lentivirales qui ont été utilisées pour la transduction des CEM-NK<sub>r</sub>.

L'expression d'E1/E2 étant décevante, le promoteur CMV a été remplacé par PGK, menant à une expression intracellulaire robuste mais pas en surface. L'expression de CD81, récepteur primaire du VHC pouvant empêcher la migration d'E1/E2 à la surface de la cellule, elle sera éteinte grâce au système CRISPR-Cas9 qui est en cours d'optimisation. Le développement de ce test permettra de doser les variations de l'activité ADCC durant la grossesse et potentiellement d'expliquer l'histoire naturelle de l'hépatite C chez la femme enceinte. Ces travaux pourraient mener à une meilleure prise en charge des femmes infectées par le VHC.

#### **A5- Rôle du domaine interne de la gp120 du VIH-1 dans l'interaction avec son récepteur CD4 et ses changements conformationnels.**

Jérémy Prévost et Andrès Finzi, CRCHUM.

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) infecte les cellules en fusionnant sa membrane avec celle de la cellule cible. La protéine responsable de cette fusion est la glycoprotéine d'enveloppe (Env). Env est synthétisé sous forme d'un précurseur, la glycoprotéine 160 (gp160) qui est clivée en glycoprotéines 41 et 120 (gp41 et gp120). La gp41 est la partie transmembranaire du complexe qui possède le peptide de fusion qui s'intégrera à la membrane cellulaire lors de la fusion. La gp120 assure la liaison au récepteur CD4 de la cellule, ainsi qu'aux corécepteurs CCR5 ou CXCR4. Le domaine interne de la gp120 contient 3 couches topologiques essentielles à l'interaction avec CD4 et les changements conformationnels nécessaires au processus de fusion. Le résidu W69, situé dans la couche topologique 1 à l'interface avec la couche 2, a été démontré comme étant essentiel à l'interaction avec CD4 et aux changements conformationnels d'Env. Dans cette étude, nous voulons évaluer l'impact que l'interaction entre ces deux couches topologiques a sur l'habileté d'Env à interagir avec son récepteur CD4 et ses changements conformationnels. Étant donné que W69 est un joueur clé de cette interface, nous avons décidé de le muter par une série d'acides aminés de taille variable (glycine, alanine, leucine et phénylalanine) et nous avons évalué l'affinité de ces mutants de la gp120 pour son récepteur CD4, pour des anticorps liant la gp120 sous sa forme liée à CD4 par résonance de plasmons de surface. Nous avons observé que la perte de l'interaction avec CD4 et avec des anticorps liant la conformation liée à CD4 de la gp120 est proportionnelle avec la diminution de la taille du résidu en position 69. Nous avons démontré que la taille du résidu en position 69 influence l'interaction entre les couches topologiques 1 et 2, ce qui affecte la conformation d'Env et conséquemment sa capacité à interagir avec CD4 et à changer de conformation.

#### **A6- Profil des sous-populations lymphocytaires B et réponses vaccinales chez les enfants exposés non infectés (ENI) par le VIH-1.**

Laurence Raymond Marchand et Hugo Soudeyns, UdeM.

Les enfants ENI sont confrontés à des anomalies immunitaires, dont une fréquence accrue de cellules B CD19+, résultant possiblement de l'exposition au VIH et/ou aux agents antirétroviraux. Ceci suggère que leurs sous-populations B et leurs réponses vaccinales pourraient être perturbées. 32 enfants ENI ayant reçu une prophylaxie de 6 sem. initiée dans les 12re heures de vie ont été stratifiés selon la charge virale (CV) maternelle la plus élevée durant la grossesse (<40 vs ≥40 copies/ml). Les cellules mononuclées du sang de cordon (SC) et du sang périphérique à 6 et 12 mois ont été isolées et les sous-populations B ont



été étudiées par cytométrie en flux (CD10, CD20, CD21, CD27). La réponse vaccinale a été étudiée par des oligomères fluorescents du fragment C du toxoïde tétanique (TTCF). Le SC des enfants ENI du groupe  $\geq 40$  copies/ml (n=11), comparé à celui des enfants du 2e groupe (n=13), contenait une fréquence supérieure de cellules B mémoires classiques et activées et de plasmablastes. Le 2e groupe avait cependant une fréquence plus importante de cellules B totales. À 6 mois, les enfants ENI du groupe  $\geq 40$  copies/ml (n=9) avaient une fréquence supérieure de cellules B naïves et une tendance supérieure de cellules B naïves spécifiques au TTCF. Tous les enfants présentaient des populations B spécifiques au TTCF post-vaccination. Selon l'exposition aux particules virales, les fréquences lymphocytaires B varient chez ces enfants, indiquant que les antigènes du VIH pourraient altérer transitoirement l'homéostasie des cellules B et leur différenciation. La réponse à la vaccination contre le tétanos semble toutefois être compétente.

#### **A7- Paramètres de la protection immunitaire à long terme chez les individus exposés mais non-réinfectés par le virus de l'hépatite C.**

Asiyah Siddique et Naglaa Shoukry, UdeM.

Le virus de l'hépatite C (VHC) affecte environ 180 millions de personnes dans le monde. Environ 25% des personnes infectées par le VHC sont en mesure d'éliminer le virus spontanément, alors que la majorité des personnes infectées deviennent infectées de manière persistante et risquent de développer une maladie du foie, y compris la cirrhose et le cancer du foie. Par conséquent, il y a un besoin urgent d'un vaccin prophylactique pour arrêter la transmission du VHC, mais le développement de vaccins est entravé par notre connaissance limitée des paramètres de l'immunité protectrice dans des contextes de la vie réelle. Dans ce projet, nous avons l'intention de définir les paramètres de l'immunité protectrice contre le VHC chez les utilisateurs de drogues injectables (UDI) qui ont été exposés au virus à plusieurs reprises, mais qui sont résistantes à une seconde infection. Nous avons comparé la fréquence de cellules T spécifiques du VHC (ampleur) en utilisant la technique « Enzyme-linked immunospot » (ELISPOT) chez les UDI réinfectés (n=14) par HCV par rapport aux UDI exposés non réinfectés (n=29). Nous avons testé la réponse des PBMCs obtenus à partir de ces deux groupes suite à la stimulation par des pools de peptides couvrant toute la polyprotéine de VHC. Nous sommes en train d'examiner par la cytométrie en flux, la qualité de la réponse des cellules T spécifiques du VHC en évaluant la polyfonctionnalité. Nous examinons la production des cytokines antivirales IFN-gamma et TNFalpha, le facteur de croissance des cellules T IL-2 et l'augmentation de CD107a, un marqueur de dégranulation et d'activité cytotoxique des cellules T. Nos résultats préliminaires démontrent que les individus résistants à la réinfection pendant les deux premières années depuis la résolution de l'infection primaire de VHC ont une fréquence élevée de cellules T mémoire spécifiques au VHC. Ces individus ont aussi une expression supérieure de CD107a de cellules T spécifiques au VHC. A long terme (> 2 ans) il n'y avait pas une différence dans la fréquence élevée de cellules T mémoire spécifiques au VHC.

**B1- Impact de l'interleukine-27 sur les cellules T CD8 humaines dans le contexte de la sclérose en plaques.**

Marie-Laure Clenet et Nathalie Arbour, UdeM.

L'interleukine-27 (IL-27) présente des propriétés pro- et anti-inflammatoires. Cette cytokine agit sur plusieurs types cellulaires dont les lymphocytes T. Plusieurs équipes ont démontré que l'IL-27 peut diminuer la sévérité d'un modèle murin de la sclérose en plaques (SEP). Toutefois, l'impact de l'IL-27 sur la SEP humaine n'est pas encore résolu. Notre laboratoire a démontré une expression élevée de l'IL-27 au sein des lésions de cerveau de patients atteints de la SEP comparée à des sujets témoins. De plus, une importante proportion des lymphocytes T ayant infiltré les lésions de SEP expriment le récepteur de l'IL-27 (IL-27R) et pourraient donc répondre aux niveaux élevés de cette cytokine. Notre laboratoire a montré que l'IL-27 favorise l'acquisition de propriétés inflammatoires par des lymphocytes CD8 naïfs humains mais son impact sur les lymphocytes T mémoires reste non résolu. Toutefois, l'IL-27R est détectable sur une plus grande proportion de lymphocytes CD8 mémoires que de lymphocytes CD8 naïfs. Sur la base de ces données, nous émettons l'hypothèse que l'IL-27 a un impact différent sur les lymphocytes CD8 naïfs et mémoires humains et module les fonctions des lymphocytes infiltrant le cerveau des patients atteints de la SEP. Nos objectifs sont de 1- comparer les effets de l'IL-27 sur le phénotype et les fonctions des lymphocytes CD8 naïfs et mémoires de donneurs sains et de patients atteints de la SEP et élucider les voies de signalisation impliquées, 2- déterminer l'impact de l'IL-27 sur les lymphocytes CD8 auto-réactifs dans le contexte de la SEP. Nous avons obtenu des données préliminaires démontrant que l'IL-27 induit une phosphorylation différente de STAT1 et STAT3 entre les sous-populations CD8. Nos travaux permettront d'élucider l'impact de cette cytokine dans le contexte de la SEP et pourront contribuer à mieux comprendre son rôle potentiel dans d'autres pathologies inflammatoires.

**B2- Regulation of T cell activation by plasma membrane phosphatidylserine.**

Audrey Connolly et Étienne Gagnon, UdeM.

Phosphatidylserine (PS) is the most abundant anionic phospholipid at the plasma membrane (PM). PS is maintained on the cytosolic leaflet of the PM through the activity of ATP-dependent aminophospholipid translocases. It has been shown that the CD3 epsilon (CD3e) chain of the T cell receptor (TCR) binds the cytosolic leaflet of the PM through electrostatic interactions between basic residues in its cytoplasmic tail and PS. At steady-state, the association of CD3e to PS leads to a sequestration of its functional tyrosines inside the PM, which has been shown to prevent spontaneous phosphorylation. During T cell activation, it was shown that PS concentration is reduced inside TCR microclusters. This process is thought to reduce the negative charge within TCR microclusters, thereby enabling the dissociation of CD3e from the PM and rendering its functional tyrosines available for phosphorylation. Recent genomic studies have identified a mutant scramblase, an enzyme that normally redistributes PS between both leaflets of the PM under elevated intracellular calcium. Our data show that introduction of this mutant in T cells results in constitutive redistribution of PS towards the outer PM lipid leaflet, thus suggesting a drop in PS levels on the cytosolic side. Interestingly, this lead to an increase in TCR phosphorylation, and correlates with the

proposed role of PS in regulating T cell activation. Our results suggest that TCR activation threshold can be modulated by modifying the amount of PS at the PM inner leaflet, suggesting a possible path for the modulation of T cell activation in cancer and autoimmunity.

### **B3- Le rôle de l'ubiquitine ligase MARCH1 dans le développement du cancer.**

Auriane de Montigny et Jacques Thibodeau, UdeM.

Le cancer hépatocellulaire (CHC) est la forme la plus commune des cancers primaires du foie. La cause de la plupart de ces cas demeure indéterminée. Cependant, plusieurs facteurs connus sont impliqués dans le développement du CHC; ceux-ci induisent une hépatopathie qui se traduit en inflammation chronique du foie, suivi par une prolifération excessive des hépatocytes afin de rétablir les fonctions basales du foie. Afin d'étudier cette maladie dans un modèle murin, nous utilisons un composé génotoxique, le diethylnitrosamine (DEN), qui reproduit bien le développement du CHC chez l'Humain. Étant donné le rôle critique de l'inflammation dans le développement des tumeurs, de nombreuses études se sont penchées sur le mécanisme anti-tumoral de cytokines anti-inflammatoires, par exemple l'Interleukin-10 (IL-10). Ces études démontrent que l'activité de l'IL-10 repose sur les cellules lymphoïdes et myéloïdes. Cependant, basé sur nos recherches préliminaires et celle d'autres laboratoires, nous suggérons que cette cytokine peut aussi agir directement sur les cellules tumorales. Notre laboratoire s'intéresse par ailleurs à une ubiquitine ligase de type E3, MARCH1 (M1). Nos recherches préliminaires suggèrent qu'elle régule certaines enzymes de la glycolyse sous certaines conditions physiologiques, notamment lors d'une stimulation par l'IL-10. Nous avons donc acquis une souris déficiente pour cette protéine afin d'étudier son rôle dans le CHC. Puisque l'IL-10 favorise l'élimination spécifique des cellules tumorales et que M1 est induit par cette cytokine, nous postulons que M1 prévient le développement du CHC en contrôlant l'activité d'enzymes impliquées dans l'effet Warburg. Nous suggérons que M1 est responsable de l'activité anti-tumorale de l'IL-10, indépendamment de l'immunité adaptative.

### **B4- Rôle des lymphocytes Th17 dans la fibrose hépatique et le développement de carcinome hépatocellulaire.**

Manuel Flores Molina et Naglaa Shoukry, UdeM

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est la deuxième cause la plus commune de mort liée au cancer. Environ 90 % des CHCs se développent dans un foie cirrhotique. Les cellules qui contribuent principalement à la fibrose hépatique sont les cellules stellaires hépatiques (CSHs). Nos résultats in vitro démontrent que l'IL-17A et l'IL-22, induisent indirectement l'activité fibrogénique de CSHs. De plus, l'analyse de biopsies démontre une fréquence accrue de cellules Th17 productrices de l'IL-17 et l'IL-22 dans le foie de patients souffrant de fibrose, ainsi qu'un ratio altéré de Th17 par rapport aux cellules T régulatrices (Tregs), suggérant un rôle important de ces cytokines dans la pathogenèse et la progression du CHC (Fabre et al., en préparation). Afin d'évaluer la contribution potentielle des lymphocytes Th17 à l'initiation et la progression du CHC, notre objectif est de déterminer la fréquence et le ratio Th17/Tregs; ainsi que la caractérisation phénotypique et fonctionnelle des Th17 et Tregs à l'intérieur de la tumeur, dans le tissu adjacent et normal. Nous ferons par la suite des analyses de corrélation avec les données

cliniques pertinentes. Nous allons déterminer la fréquence des lymphocytes Th17 par immunofluorescence sur des sections de foie incluses en paraffine. Ces échantillons proviennent de la banque de données cliniques et d'échantillons biologiques associés à des fins de recherche sur les cancers hépatobiliaires et pancréatiques du CHUM. Également, nous allons caractériser le phénotype et la fonction des Th17 et Tregs par cytométrie en flux, à partir des suspensions cellulaires cryopréservées. Nos résultats préliminaires (1 patient) montrent une diminution du ratio Th17/Treg dans la tumeur due à un enrichissement en cellules T régulatrices. Cette fréquence accrue de Tregs est accompagnée d'une augmentation de marqueurs d'épuisement sur les cellules Th17 et d'un phénotype plus suppresseur des Tregs dans la tumeur. Nos résultats suggèrent un rôle important du ratio Th17/Treg dans le développement de CHC.

### **B5- Determining the therapeutic potential of blocking CD271 to promote tumor-specific T cell responses.**

Charles-Étienne Lebert-Ghali et Heather Melichar, UdeM.

Co-signaling molecules are essential modulators of the immune system. These co-signaling molecules belong to the immunoglobulin and tumor necrosis factor receptor superfamilies (IgSF and TNFRSF, respectively). Despite intensive study of these protein families, the functions and binding partners for many IgSF and TNFRSF members remain largely unknown. In particular, CD271 (NGFR, p75 neurotrophin receptor, and TNFRSF16) is expressed on neural crest-derived cells, several immunomodulatory cell types including mesenchymal stromal cells and myeloid-derived suppressor cells, as well as on diverse cancers cells. Yet, little is known about its immunomodulatory properties. Given its expression on several immunoregulatory cell types and newly described interaction with human CD80, we hypothesized that CD271 may directly and/or indirectly modulate T cell function. Indeed, *in vitro* stimulation of purified mouse and human T cells in the presence of recombinant CD271-Fc protein inhibits T cell activation, proliferation, and cytokine production in a CD80-independent manner. Further, we have evidence that CD271-Fc can influence cytokine production by human PBMC-derived dendritic cells. Together, these results demonstrate that CD271 may directly and indirectly modulate T cell function, and our continuing work to determine its ligands and the physiological role of CD271 on immunomodulatory cell types may inform therapeutic approaches in autoimmunity and cancer. This work has been supported by the Cole Foundation and the Canadian Cancer Society.

### **B6- Role de march1 dans l'obésité et le diabète types 2.**

Abdelilah Madjoubi et Jacques Thibodeau, UdeM.

L'obésité est un problème majeur de santé à travers le monde. Elle est associée à l'hyperglycémie et à l'hyperlipidémie : deux facteurs conduisant au diabète type 2 et aux maladies cardiovasculaires via un processus inflammatoire. Les intervenants cellulaires impliqués dans l'inflammation induite par l'obésité ont été largement décrits. Notamment, le rôle des différents phénotypes des macrophages a été bien établi. Récemment, deux études indépendantes ont démontré que la présentation antigénique par CMH II est requise pour cette inflammation. Les travaux de notre laboratoire sont axés sur le rôle de March-1 dans la

régulation de la présentation antigénique par CMH II et ont permis de mieux comprendre les mécanismes de cette régulation, notamment au niveau des monocytes et des lymphocytes B. Étant donné que la présentation antigénique par CMH II intervient dans l'inflammation induite par l'obésité et que March-1 joue un rôle centrale dans la régulation de la présentation antigénique, nous nous sommes intéressés au rôle que pourrait jouer cette E3-Ubiquitine ligase dans le mécanisme d'inflammation induite par l'obésité. Les résultats que nous avons obtenus montrent que les souris March1<sup>-/-</sup> soumises à régime HFD, consomment plus de repas, développent plus d'obésité et plus de résistantes à l'insuline lorsque comparées aux souris de type sauvage (WT). Pour vérifier si ce phénotype métabolique est lié au rôle de March-1 dans l'ubiquitination de ces cibles déjà connues, nous avons utilisé une souris CMH classe 2 Knock-in, dont le CMH classe 2 est non-ubiquitinable par March-1. Cette souris présente un phénotype métabolique similaire aux souris WT dans un régime HFD. Les souris WT irradiées et greffées avec la moelle osseuse March1<sup>-/-</sup> développent plus d'obésité et plus de résistantes à l'insuline et ne présentent aucune différence en ce qui concerne la consommation de repas par rapport aux souris greffées avec la moelle WT. Ces résultats montrent que March-1 pourrait jouer un rôle protecteur contre l'obésité et la résistance à l'insuline.

#### **B7- INTERLEUKIN-7 PRODUCTION BY DENDRITIC CELLS IS CRITICAL FOR NEGATIVE SELECTION OF CD4<sup>+</sup> T IN THE THYMUS.**

Moutuaata Mohamed Moutuou et Martin Guimond, UdeM.

IL-7 is a cytokine produced by stroma cells, which plays an essential role for T cell development in the thymus (Mazzuchelli et al. 2009; Mackall et al. 2011). During thymopoesis, thymocytes undergo positive and negative selection through interactions between T cell receptor and self-peptide major histocompatibility complexes (MHC) (Bouneaud et al, 2000; Klein et al, 2014). Recent studies have indicated that co-stimulation is important during negative selection mediated by medullary dendritic cells (DCs) (Sprent et Kishimoto, 2002). Given that DCs produce IL-7 and IL-7 modulate TCR signalling, we hypothesized that IL-7 production by medullary DCs might increase TCR sensitivity and modulate negative selection. The first objective in this project consists to assess the kinetics of immune reconstitution in the thymus and in the periphery of Rag<sup>-/-</sup> mice transplanted with IL-7<sup>-/-</sup> and wild type stem cells. While the second objective seeks to assess negative selection in CD4<sup>+</sup> T cells and generation and suppressive function of regulatory T cell. The third objective focusing to understand how IL-7 produced by DCs affect TCR signalling in CD4 thymocytes. We limited IL-7 production to thymic epithelial cells by engineering chimeric Rag<sup>-/-</sup> mice with hematopoietic cells from IL-7<sup>-/-</sup> mice. Following bone marrow (BM) transplantation, control mice (C57BL/6→Rag<sup>-/-</sup>, Rag<sup>-/-</sup>→Rag<sup>-/-</sup>) remains healthy whereas recipients of IL-7<sup>-/-</sup> BM cells developed signs of illness and dies within 5-6 weeks. Adoptive transfer of CD4<sup>+</sup> but not CD8<sup>+</sup> T cells recapitulated the disease in lymphopenic hosts but not in T cells repleted mice. Despite a similar thymic recovery in transplanted mice, a rapid thymic involution occurred in IL-7<sup>-/-</sup>→Rag<sup>-/-</sup> chimeras prior disease onset. Finally, we confirmed a defect in negative selection by observing the production of autoreactive anti-HY T cells TCR transgenic Marilyn male mice receiving IL-7<sup>-/-</sup> BM. Our data identified an unsuspected role for DCs-derived IL-7 in negative selection of CD4<sup>+</sup> T cells in the thymus.

**B8- Role of MARCH1 in the homeostasis, the development and the activation of B cells and its effects on Leishmania donovani infections.**

Maxime Raymond et Jacques Thibodeau, UdeM.

The membrane-associated RING-CH1 (MARCH1), an E3 ubiquitin ligase, has been shown to be constitutively expressed in all the peripheral B cell subtypes, increases during B cells development and is found to be highly enriched in mature follicular B cells. On the other hand, some important survival and proliferation signals such as CD40-CD40L interaction results in a complete loss of MARCH1 expression in B cells. Also, in experimental visceral leishmaniasis, it has been shown that B cells contribute to disease exacerbation. Here we set out to investigate the role of MARCH1 in the homeostasis, the development and the activation of B cells and its effects on *Leishmania donovani* infections. Flow cytometry was used to characterize the different sub-populations of B cells at steady state in mice. Different approaches has been used to follow the survival, prolifération and activation of these cells using respectively BAFF treatment followed by Annexin V/ PI staining, CFSE labelling and calcium mobilization assay following a BCR stimulation. We also infected MARCH1-KO mice with *L. donovani* promastigotes and followed the parasite burden at day 7, 14 and 28 post infection. Using OVA-transgenic *L. donovani* and adoptive transfer of OT-I CD8 T cells, we studied T cell responses in the spleen. Flow cytometry was used to characterize the different cell populations implicated in parasite clearance in the spleen. We also performed histological analysis. Here we show that MARCH 1-KO mice have an increase number of T1 immature B cells in the spleen. We also show a significant decrease of *L. donovani* burden in the spleen when compared to their wild-type counterpart. Surprisingly, this effect was not observed in the liver. We show that this effect is not due to an enhanced T cell response but rather by an effect on B cells functions. Our Results suggest that the absence of MARCH 1 affect B cells development and functions, which in turn may have a protective effect against *L. donovani* infections in the spleen.

**B9- La régulation du métabolisme cellulaire par l'E3 ubiquitine ligase MARCH-1.**

Antoine Sabourin et Jacques Thibodeau, UdeM.

L'ubiquitination d'une cible se fait en plusieurs étapes et nécessite une cascade de réactions impliquant trois types d'enzymes; E1, E2 et E3. Elle engendre la dégradation, la relocalisation ou bien l'altération de la fonction du substrat ubiquitiné, dépendamment de son niveau d'ubiquitination. Membrane-associated RING-CH-1 (MARCH-1), l'un des 11 membres de la famille MARCH, est une E3 ubiquitine ligase qui cible des acteurs majeurs de la réponse immunitaire. Entre autres, elle régule post-transcriptionnellement l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II), de CD86 (B7.2), de CD95 (FAS) et du récepteur de la transferrine. Un « pull-down » réalisé au laboratoire montre une possible interaction entre MARCH1 et certaines enzymes de la glycolyse, ce qui suggère une interaction avec le métabolisme cellulaire. La phosphorylation oxydative, dépendante de l'oxygène, est la principale voie métabolique utilisée pour la production d'énergie dans les cellules au repos. Le NADPH et le FADH2

permettent le transport d'électrons via les complexes de la membrane mitochondriale, ce qui induit la production d'ATP par l'ATP synthase. Cette voie métabolique est plus efficace que la glycolyse anaérobie en terme d'ATP produits par molécules de glucose utilisées, mais la glycolyse, moins catabolique, permet une meilleure incorporation de nutriment dans la biomasse et une production plus rapide d'ATP. L'activation des cellules immunitaires nécessite des besoins énergétiques plus grands et dépend d'une modification du métabolisme. La glycolyse devient alors la voie métabolique utilisée pour soutenir ces nouveaux besoins. MARCH-1 régule l'activité métabolique de la cellule par l'ubiquitination de certaines enzymes clés de la glycolyse. Un défaut d'expression ou d'activité de MARCH-1 entraînerait une prédisposition dans le développement de certains cancers, en promouvant l'effet Warburg.

**C1- Bim est un gène candidat dans la régulation de la proportion des cellules dendritiques mérocytiques.**

Cindy Audiger et Sylvie Lesage, UdeM.

À l'inverse des cellules dendritiques (DC) conventionnelles, quand les DC mérocytiques (mcDC) présentent des antigènes dérivés de corps apoptotiques, l'état d'anergie des cellules T est reversé plus tôt qu'induit. De plus, les souris NOD prédisposées au diabète auto-immun vont présenter une plus grande proportion de mcDC par rapport aux souris résistantes et ces mcDC peuvent induire le diabète in vivo. En cherchant à définir les paramètres qui définissent le nombre de mcDC chez la souris NOD, nous avons démontré que le locus de prédisposition au diabète Idd13 est lié à la proportion des mcDC. D'ailleurs, la souris congénique NOD.B6-Idd13, où le locus Idd13 est remplacé par l'intervalle de résistance issue de la souris B6, présente un nombre comparable de mcDC à la souris B6. Puisque le gène codant pour la molécule pro-apoptotique Bim, est inclus dans le locus Idd13, nous postulons qu'un polymorphisme affectant son expression soit responsable du nombre élevé de mcDC chez la souris NOD. En comparant les souris B6 ou B6.Bim-déficientes, nous observons que le nombre de mcDC est fortement augmenté en absence de Bim. De plus, la génération de chimères hématopoïétiques compétitives a confirmé Bim comme facteur intrinsèque impliqué dans la régulation des proportions de mcDC. En lien avec le rôle de Bim dans la régulation du nombre de mcDC, nous avons montré que l'activité caspase et l'expression de Bcl2 ne sont pas différemment exprimés entre les modèles murins, suggérant un rôle caspase-indépendant de Bim dans la régulation du nombre de mcDC. Ensemble, ces résultats soutiennent le rôle de Bim à titre de gène causal dans la régulation du nombre de mcDC et appuient les observations voulant qu'un nombre élevé de mcDC favorise l'auto-immunité.

**C2- Improvement of biological H<sub>2</sub> production.**

Khorcheska Batyrova et Patrick Hallenbeck, UdeM.

The increased scarcity of fossil fuels and concerns over climate change has focused attention on alternative energy and the production of renewable fuels. Hydrogen is actively being investigated as a future fuel, but a practical means for renewable production of hydrogen is lacking. Biological hydrogen production holds promise as a sustainable process for hydrogen production, but, although a variety of microorganisms are known that are capable of hydrogen production, no current process is practical due to the low rates and yields so far obtained. The major barriers to practical applications of biohydrogen production are inefficient utilization of light energy, the sensitivity of the hydrogenases to oxygen, the high costs of H<sub>2</sub> gas- impermeable, transparent photobioreactors, and the low yields of hydrogen obtainable by dark fermentations of organic substrates, among others. Obtaining useful amounts of hydrogen from microorganisms will require overcoming these obstacles. Technological approaches to circumvent these problems might be to combine enzymes or pathways with desirable properties from different organisms to generate a robust hybrid pathway. Other approaches will involve understanding and controlling the cellular regulation of the gene products required for hydrogen production. Within this



project, in order to improve biological H<sub>2</sub> production, I addressed one of the main problems: Increasing hydrogen yields by green algae and biophotolysis by attempting to decrease the negative effects of oxygen. Solution of this problem involves two main parts:

1. Study biochemically/biophysically a naturally O<sub>2</sub> resistant enzyme by expressing it in *E. coli*. What is learned may aid in designing O<sub>2</sub> tolerant H<sub>2</sub> evolving enzyme.
2. Use metabolic controls/ genetic regulation to modulate O<sub>2</sub> evolving activity, permitting higher yields of H<sub>2</sub>.

Finally, the results obtained could provide significant insight to the development of advanced catalysts required for the development of a future H<sub>2</sub> economy with H<sub>2</sub> as an energy vector.

### **C3- Site-specific recombination in *Streptococcus suis*.**

Fabio Andres Castillo Martinez, Amal Benmohamed et George Szatmari, UdeM.

Bacterial recombination is known for contributing to the development of multi-drug resistance in several pathogenic bacteria with critical implications for medical and public health concerns like *Streptococcus* spp. Therefore, a better understanding of the genetic interactions between bacterial lineages is necessary. Site-specific recombination systems are widely used by organisms for a variety of cellular functions including stabilizing multimeric plasmids and chromosomes by converting them into more stable monomers. In bacteria, this is performed by the Xer/dif system. In this system, the Xer proteins perform a recombination reaction at the dif site at the cell septum immediately prior to cell division. This temporal and spatial mode of regulation is achieved by activating Xer recombination by the cell division protein FtsK. In most bacteria this reaction is performed by two recombinases, XerC and XerD, which act together at the dif site to perform the recombination reaction. In the case of *S. suis*, it only requires a single recombinase, XerS, to perform the reaction at a 31 bp sequence difSL. The left, and right half of the recombination sites of difSL are imperfect repeats. Results showed that XerS binds to the left half of the sequence preferentially when compared to the right side. Additionally, XerS cleaves both the top and bottom strands of the difSL site, with a preference for bottom strand cleavage, and with the cleavage sites separated by 11 bp as opposed to the 6-8 bp commonly found with all other tyrosine recombinases. This proposed research program aims to understand how XerS recombination works in the single recombinase system of *Streptococcus*, how this recombination is regulated by host factors and how this system may have evolved from the double XerCD recombinases found in most other bacteria. Exploration of these recombinases genes will elucidate the function of developmental genes, and this could give a better understanding of evolution and speciation of recombinogenic bacteria.

### **C4- Rôle des topoisomérases de type 1A dans la stabilité du génome chez *E. coli*.**

Makisha Martel et Marc Drolet, UdeM.

Les topoisomérases (topos) sont des enzymes essentielles retrouvées chez tous les organismes vivants. Ces enzymes ont pour rôle de résoudre les problèmes topologiques de l'ADN durant la réplication, la recombinaison et la transcription. Depuis plusieurs années notre laboratoire étudie les topos de type 1A de

la bactérie *E. coli*. Nos travaux ont mené à la caractérisation d'une fonction majeure de la topo I, soit l'inhibition de la formation de R-loops, afin de permettre l'expression génique. Les résultats de ces travaux ont eu un impact majeur sur la compréhension des mécanismes d'instabilité génomique liés à la transcription chez les eucaryotes. En effet, dans la majorité des cas, les R-loops ont été mis en cause. Plus récemment nous avons obtenu des évidences génétiques suggérant que les topoisomères de type 1A chez *E. coli* jouent un rôle important dans le maintien de la stabilité du génome en empêchant la réplication à partir de R-loops. Contrairement à la réplication à partir de l'origine normale *oriC*, la réplication initiée à partir des R-loops n'est pas régulée avec le cycle cellulaire, ce qui peut compromettre la stabilité du génome. L'objectif principal de ce projet est de comprendre comment les topoisomères de type 1A maintiennent la stabilité du génome. Nous pensons que cette fonction importante est liée à leur capacité à contrôler la formation de R-loops. Notre hypothèse principale est qu'en absence des topoisomères de type 1A, la réplication à partir de R-loops peut entraîner la formation de cassures double brin dans l'ADN et des problèmes de ségrégation des chromosomes. J'ai mis au point un protocole de cytométrie nous permettant de détecter la réplication initiée en dehors de *oriC* et d'attribuer ou non celle-ci aux R-loops, en manipulant les niveaux intracellulaires de RNase HI. Nos données préliminaires montrent la présence de réplication à partir de R-loops chez des mutants *topA*, doubles *topA topB*, mais pas dans *topB*. Nous testerons également l'effet de notre mutation *dnaT*, qui inhibe spécifiquement la réplication à partir des R-loops.

#### **C5- Contrôle circadien de la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T CD8.**

Chloé Nobis et Nathalie Labrecque, UdeM.

Les horloges circadiennes sont localisées dans la majorité des tissus, incluant les organes lymphoïdes secondaires. Ces horloges contrôlent divers aspects de la réponse immunitaire. Cependant, le lien entre les rythmes circadiens et la réponse immunitaire adaptative sont peu connus. Notre hypothèse est que la réponse des lymphocytes T à un antigène présenté par des cellules dendritiques (DCs) est contrôlée par une horloge circadienne présente dans les lymphocytes T. Pour tester cette hypothèse, nous avons immunisé des souris avec des DC chargées avec le peptide antigénique issu de la protéine ovalbumine (OVA), et mesuré la réponse antigénique T spécifique une semaine post-immunisation. Nous avons observé que la réponse immunitaire à l'encontre de cet antigène était plus forte lorsque l'immunisation était faite au milieu de la journée par rapport au milieu de la nuit. De plus, les cellules T CD8 productrices d'interféron gamma ont présenté un rythme circadien, ce qui n'était pas le cas des cellules T CD8 productrices d'interleukine 2. Pour déterminer le rôle de l'horloge des lymphocytes T CD8 dans le rythme de la réponse immunitaire à d'un antigène présenté par des DCs, nous avons utilisé le système Cre-lox pour éliminer l'expression du gène *Bmal1* (gène de l'horloge essentiel) dans les lymphocytes T CD8. Nos résultats ont montré un rythme dans l'expansion des lymphocytes T CD8 après une immunisation toutes les 6 heures (pour une période totale de 24 heures) avec des DC-OVA dans les souris de type sauvage. À l'inverse, le rythme de la réponse immunitaire était aboli dans les souris dont le gène *Bmal1* était spécifiquement éliminé dans les lymphocytes T CD8. Ainsi, l'horloge des lymphocytes T CD8 est essentielle pour les variations circadiennes de la réponse immunitaire dans un contexte d'immunisation avec des DC-OVA.

**C6- Rôle du facteur de transcription NR4A3 dans l'activité métabolique et la fonction des lymphocytes T CD8.**

Livia Odagiu et Nathalie Labrecque, UdeM

Lors d'une infection, les lymphocytes T CD8 (LT) spécifiques pour l'agent infectieux prolifèrent et se différencient en effecteurs qui élimineront le pathogène. Deux sous-populations d'effecteurs sont générées, les SLEC («short lived effector cells»; CD127- KLRG1+) qui sont destinés à mourir et les MPEC («memory precursor effector cells»; CD127+ KLRG1-) qui poursuivront leur différenciation en LT mémoires. Les mécanismes moléculaires contrôlant la différenciation SLEC/MPEC ne sont pas encore complètement définis. Lors de la reconnaissance antigénique via le récepteur spécifique des cellules T, il y a induction de l'expression du facteur de transcription NR4A3. Nous avons donc évalué le rôle de NR4A3 lors de la réponse des LT CD8 suite à une infection avec *Listeria monocytogenes* à l'aide de LT déficients pour le gène *Nr4a3*. Nous avons ainsi déterminé que les LT *Nr4a3*<sup>-/-</sup> ont une expression réduite de récepteurs de nutriments et une diminution de la traduction protéique à jour 3 post-infection. De plus, nous avons démontré que les LT *Nr4a3*<sup>-/-</sup> génèrent plus de MPEC au pic de la réponse et conséquemment plus de LT mémoires, suggérant un rôle important de NR4A3 lors du choix de différenciation SLEC/MPEC. En conclusion, NR4A3 est un nouvel acteur contrôlant le choix de différenciation SLEC/MPEC et la génération de LT mémoires. Nos résultats suggèrent que NR4A3 affecte ce choix de différenciation en contrôlant l'activité métabolique des LT lors de la réponse immune.

**C7- Prévalence, importance clinique et résistance aux triazolés chez les isolats d'*Aspergillus* section *Fumigati* cryptiques : Une étude dans un hôpital montréalais de 2000 à 2013.**

Maxime Parent-Michaud, Louis De Repentigny et Simon F. Dufresne, UdeM.

Les espèces cryptiques d'*Aspergillus* section *Fumigati* sont une cause émergente d'aspergillose invasive. Plusieurs isolats montrent une résistance intrinsèque in vitro aux antifongiques triazolés, associée à un échec du traitement. La prévalence des espèces cryptiques varie entre les institutions, pour des raisons encore mal définies. Nous avons effectué une étude rétrospective sur 1183 isolats cliniques d'*Aspergillus fumigatus*, collectés entre 2000 et 2013 par l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont. Les isolats ont été cultivés sur Sabouraud-dextrose agar et Czapek-Dox agar pour confirmer la morphologie macroscopique et microscopique. Les isolats compatibles avec *A. fumigatus* par morphotypage ont été dépistés pour la présence d'espèces cryptiques par la vitesse de sporulation et la thermotolérance à 49°C. Vingt et un isolats atypiques ont été identifiés par séquençage du gène de la  $\beta$ -tubuline, confirmant *A. fumigatus* (N=9; 9 Pts.), *Aspergillus turcosus* (N=4; 4 Pts.), *Neosartorya pseudofischeri* (N=7; 1 Pt.) et *Neosartorya hiratsukae* (N=1; 1 Pt.). La sensibilité aux antifongiques itraconazole (itra.), voriconazole (vori.) et posaconazole (posa.) a été déterminée par la méthode de référence de microdilution en bouillon (CLSI M38-A2). Les isolats ont été considérés résistants si leur concentration minimale inhibitrice (CMI) était supérieure à la valeur seuil épidémiologique (ECV) (>1  $\mu\text{g/ml}$  pour itra. et vori., et >0.25  $\mu\text{g/ml}$  pour posa.). Les 7 isolats de *N. pseudofischeri* avaient une résistance au vori. (CMI=4  $\mu\text{g/ml}$ ), ainsi qu'un isolat d'*A. turcosus* (CMI=2  $\mu\text{g/ml}$ ). Le séquençage du gène *Cyp51a* est en cours. La révision des dossiers médicaux a révélé que les quatre isolats d'*A. turcosus* étaient associés à une colonisation des

voies respiratoires, que *N. hiratsukae* a causé une aspergillose cavitaire chronique et que *N. pseudofischeri* étaient la cause d'une aspergillose invasive pulmonaire, sinusale et cérébrale, chez greffé de cellules hématopoïétique allogénique. Ces résultats confirment la faible prévalence (1%) d'espèces cryptique d'*Aspergillus* section Fumigati.

### **C8- Optimization of Process Variables in Fermentative Hydrogen Production.**

Zeynep Yilmazer Hitit et Patrick Hallenbeck, UdeM.

In this study the effects of various factors on fermentative hydrogen production using co-cultures of *C. butyricum* and *E. aerogenes* were investigated by using the experimental design methods of Plackett Burman and Central Composite Design to achieve higher yields and make the process better understood and optimized to improve performance. A fermentative hydrogen production process can be conducted by using either pure cultures or co-cultures. Several previous studies evaluated hydrogen production by pure cultures of *C. butyricum* and *E. aerogenes*. Evaluating hydrogen production by co-culture of these microorganisms is an interesting approach since *E. aerogenes* is a facultative microorganism with resistance to oxygen in contrast to strict anaerobe *C. butyricum*, and therefore has the ability to maintain anaerobic conditions. Experimental design can have a great importance in improving a fermentative hydrogen production process since these processes are quite complex and influenced by many factors such as substrates, added agents, initial pH, inoculum ratio of microorganisms, bioreactor operational conditions etc. This object of the present study is to give use a Design Experiments (DOE) approach in microbiology field to achieve optimal results for complex systems that require variation of different variables. For this purpose, Plackett Burman design was evaluated first with by varying the parameters of substrate concentration (g/L), inoculum ratio and added agents concentrations (g/L) to find effective parameters influencing biohydrogen production. After finding most effective parameters such as inoculum ratio of *C. butyricum* (mL), substrate concentration (g/L) and FeSO<sub>4</sub> concentration (g/L) by Plackett Burman design; Central Composite Design (CCD) was carried out. The results of a first set of experiments using CCD will be presented. These results give the conditions for obtaining maximum hydrogen production within the range of variables chosen and suggest that further experimentation, at a different range of variables, will lead to even higher hydrogen yields.



