

1. INTRODUCTION

Plusieurs virus à l'origine d'épidémies sont peu accessibles

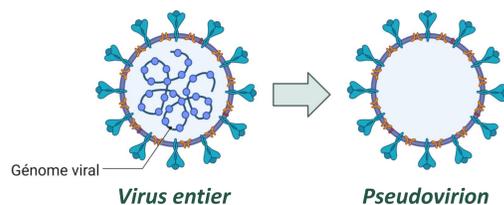
La manipulation des agents pathogènes requiert la disponibilité d'installations suffisamment sécurisées. Des virus comme le **SRAS-CoV-2**, le virus de la grippe aviaire ou le virus de la fièvre du Nil occidental doivent être manipulés dans des installations de **niveau de biosécurité 3**, peu nombreux au Québec. **Sans l'accès à ces installations, le développement de vaccins, de tests diagnostiques et de nouvelles connaissances est significativement ralenti.**

Comment améliorer l'accessibilité aux virus causant des épidémies?

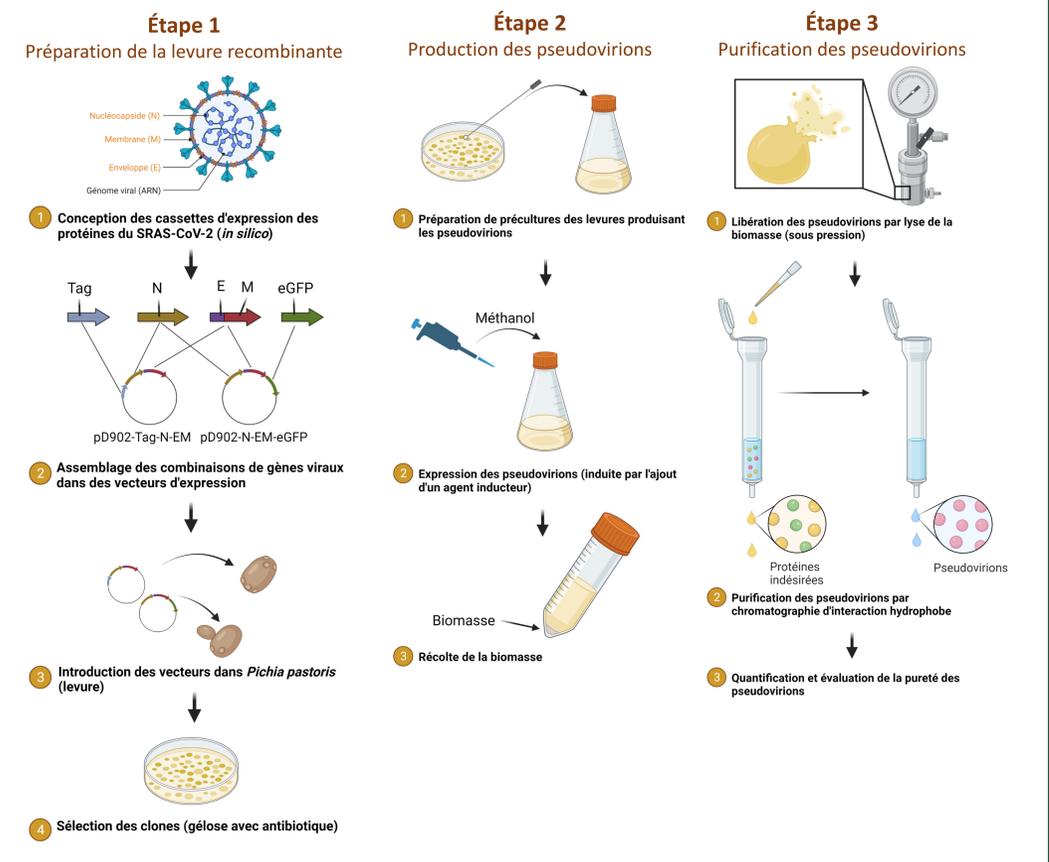
Les pseudovirus sont des structures composées de protéines virales sans matériel génétique. Très similaires aux virus entiers, ils s'assemblent de façon autonome lorsque les protéines virales sont exprimées par un microorganisme recombinant. **Les pseudovirus peuvent être manipulés dans des installations de niveau de biosécurité 1**, ce qui permet de contourner les problèmes liés à l'utilisation de virus entiers.

Des pseudovirus pour lutter contre la COVID-19

Pour accélérer la recherche de solutions à la COVID-19, l'équipe du CNETE a mis au point une souche recombinante de la levure *Pichia pastoris* exprimant trois protéines (E, M, N) du SRAS-CoV-2, lesquelles s'assemblent pour former des pseudovirus.

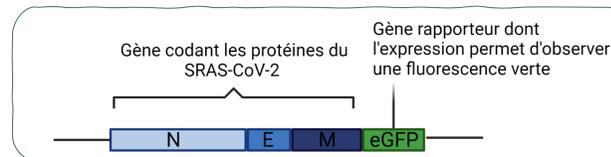


2. MÉTHODE

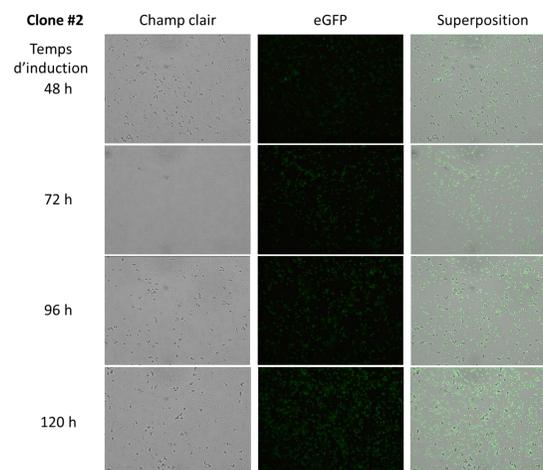


3. RÉSULTATS

Première construction Pseudovirus fusionnés avec une protéine fluorescente

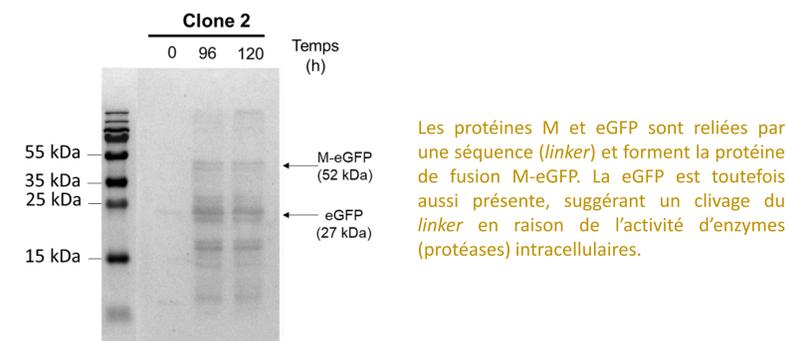


1. Des observations en microscopie à fluorescence confirment la production des pseudovirus



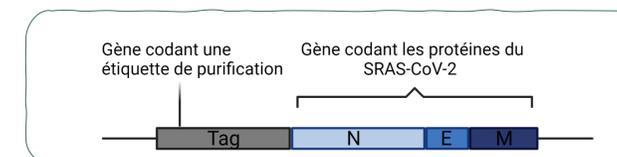
La fluorescence est observée seulement si la eGFP est produite, et sa révélation suggère que les protéines N, E et M ont aussi été produites.

2. L'immunobuvardage de type Western confirme la présence de la protéine de fusion M-eGFP

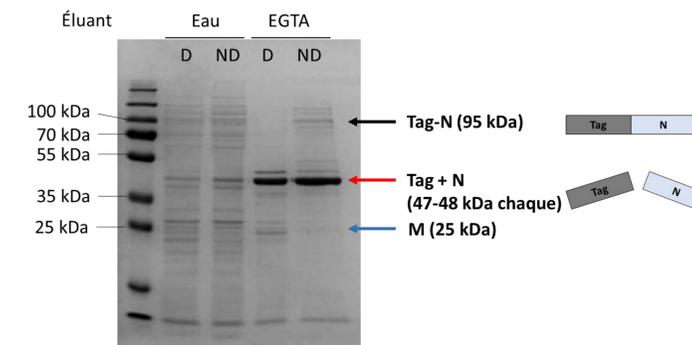


Deuxième construction

Expression de pseudovirus fusionnés à une étiquette de purification



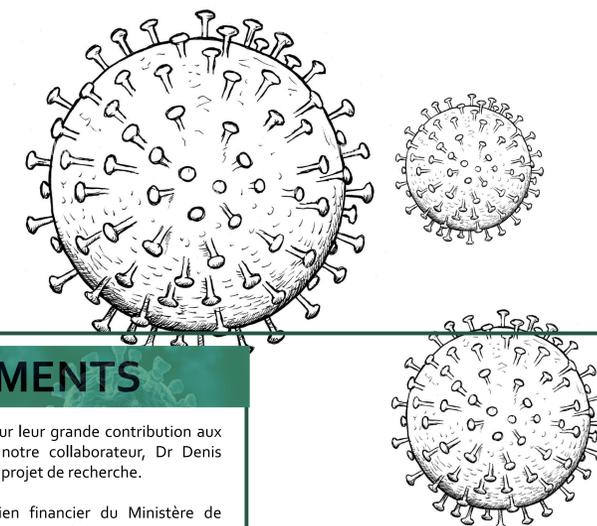
3. La séparation des protéines sur gel de polyacrylamide après la purification par chromatographie d'interaction hydrophobe révèle la présence de la protéine de fusion Tag-N



D: digéré avec la protéase TEV; ND: non digéré avec la protéase TEV.

Les protéines sont séparées en condition dénaturante, divisant les pseudovirus en leur constituants. Les protéines Tag-N, N et M sont présentes (E est de taille trop faible pour être observée).

L'étiquette de purification (Tag) permet de purifier les pseudovirus. La présence de la protéine de fusion Tag-N (95 kDa) est soutenue par l'effet de la digestion avec la protéase TEV qui divise Tag-N en ses deux constituants (Tag + N, tailles respectives de 47 et 48 kDa).



4. CONCLUSION

Une souche de la levure *P. pastoris* co-exprimant les protéines de structure du SRAS-CoV-2 a été développée et elle produit les constituants des pseudovirus du SRAS-CoV-2. Une comparaison de l'assemblage protéique purifié avec le virus entier est toutefois nécessaire pour confirmer l'intégrité structurale des pseudovirus.

5. REMERCIEMENTS

Nous remercions l'équipe technique du CNETE pour leur grande contribution aux travaux expérimentaux. Nous remercions aussi notre collaborateur, Dr Denis Leclerc (Université Laval), pour sa contribution à ce projet de recherche.

Ce projet a été rendu possible grâce au soutien financier du Ministère de l'Enseignement supérieur (MES) via le programme d'aide à la recherche et au transfert (PART), volet innovation technologique.