

Mieux produire pour mieux guérir : amélioration de la solubilité de facteurs de croissance requis pour développer des organoïdes

Katy Leduc^{1,2}, Anthony Guédon², Catherine Sanche², Louis-Philip Saint-Yves², Nicolas Malenfant² et Jean-François Lemay²

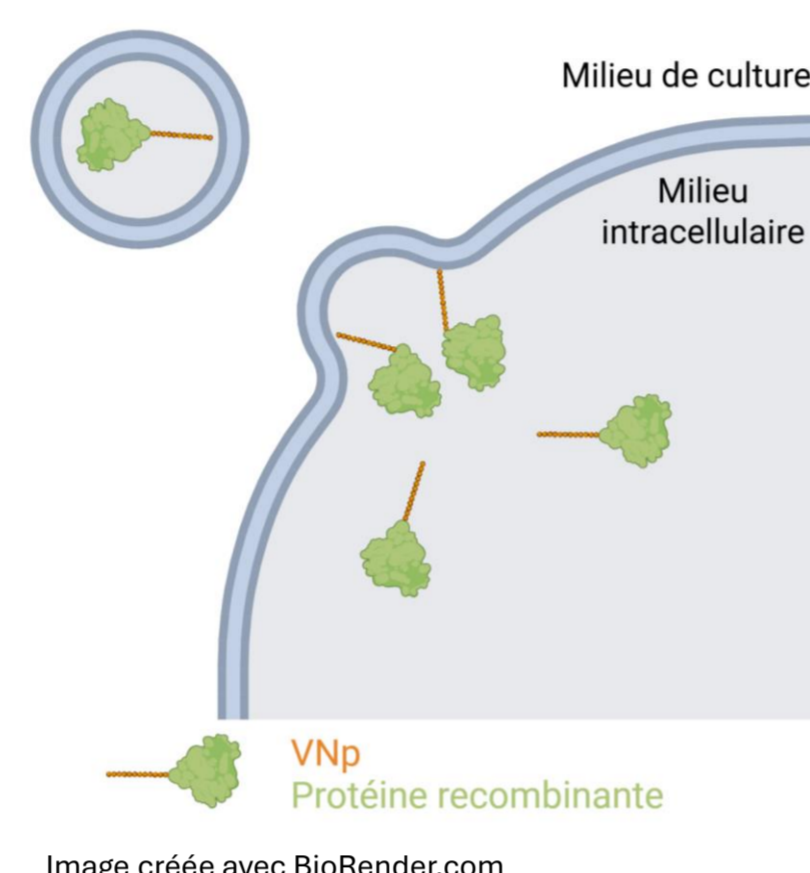
¹Département de biologie et biotechnologies, Cégep de Shawinigan, Shawinigan, QC, G9N 6V8; ²Centre national en électrochimie et en technologies environnementales, Shawinigan, QC, G9N 6V8

Colloque de l'ARC et du Réseau des CCTT dans le cadre du 93e Congrès de l'Acfas, Université du Québec à Trois-Rivières, 11 mai 2026

MISE EN CONTEXTE

Des modèles cellulaires d'organes humains miniatures, les organoïdes, sont de plus en plus utilisés pour élucider les mécanismes moléculaires pathologiques. Leur préparation exige la différenciation de cellules souches induites par un mélange de facteurs de croissance. Toutefois, la production de ces facteurs comporte plusieurs défis, dont leur rendement de production et leur solubilité faibles¹.

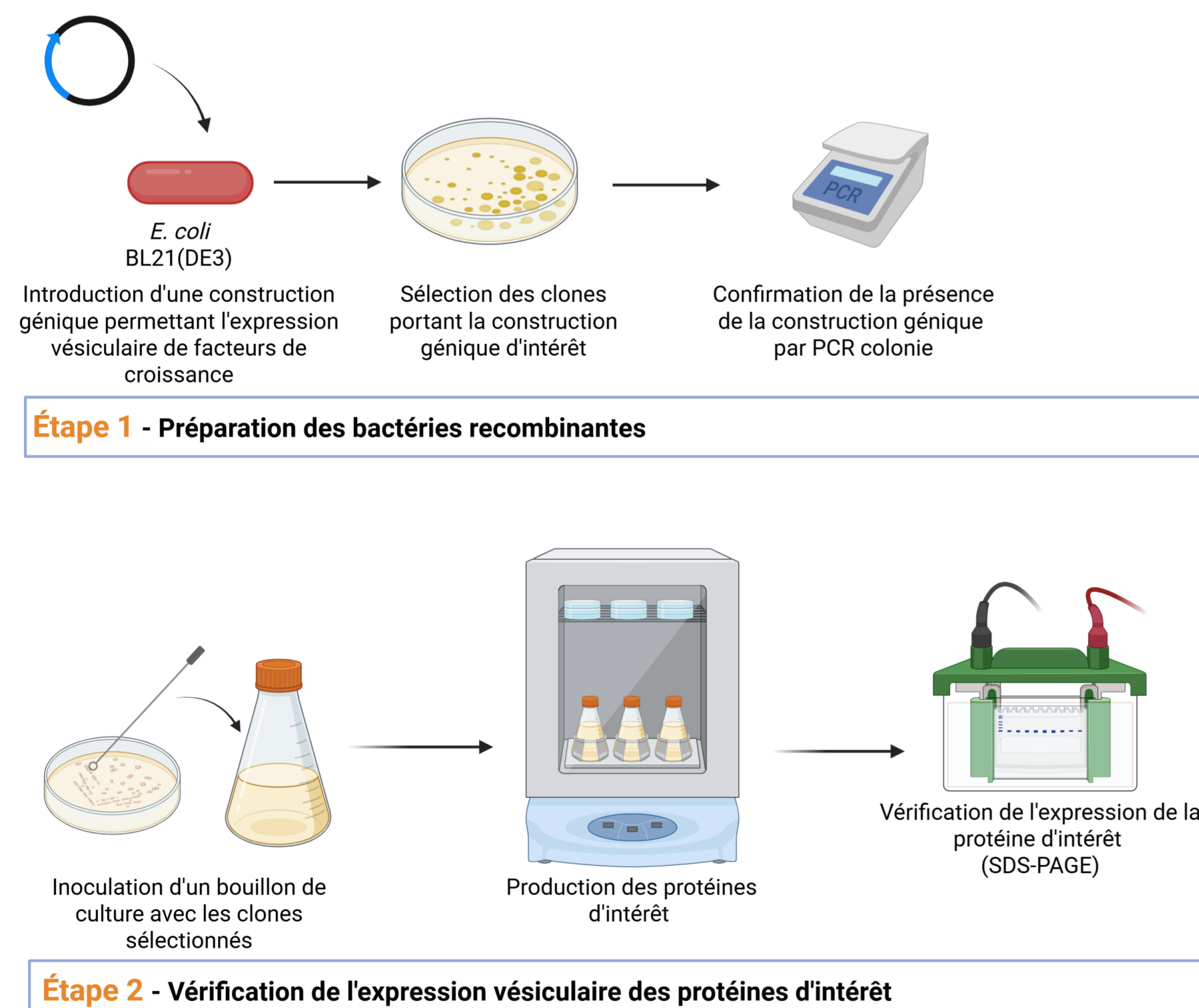
Un outil moléculaire récent s'est avéré efficace pour améliorer la production de protéines recombinantes insolubles avec la bactérie *Escherichia coli*². Lorsque relié à une protéine d'intérêt, le *vesicule nucleating peptide* (VNP) en provoque l'export dans des vésicules membranaires sécrétées par la bactérie et en augmente significativement le rendement². Le VNP pourrait être un outil permettant de contourner les limitations actuelles de la production de facteurs de croissance par *E. coli*.



Deux facteurs de croissance utilisés pour préparer de nombreux organoïdes (cœur, poumon, intestin)³, l'actine A et la protéine morphogénétique osseuse 4 (*bone morphogenetic protein 4* – BMP-4), sont utilisés comme modèle pour évaluer le potentiel du VNP. Nous évaluons qualitativement:

- L'effet du VNP sur le rendement en protéines;
- Les conditions qui stimulent la sécrétion des vésicules chargées.

MÉTHODOLOGIE



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

- Le VNP assure une production équivalente des facteurs de croissance lorsque combiné ou non à l'étiquette de solubilité SUMO.
- L'ajout d'agents chimiques dans le milieu de culture stimule l'export vésiculaire des deux facteurs de croissance. L'efficacité de cet agent varie selon la protéine.
- La co-expression d'une protéine facilement exportée dans les vésicules grâce au VNP n'augmente pas la localisation vésiculaire de la BMP-4.

Ces résultats suggèrent que l'effet du VNP sur l'importance de l'export vésiculaire varie selon la protéine à laquelle il est fusionnée. Il ne s'agit pas d'un outil moléculaire universel.

RÉSULTATS

1. Les facteurs de croissance sont peu exprimés dans les vésicules

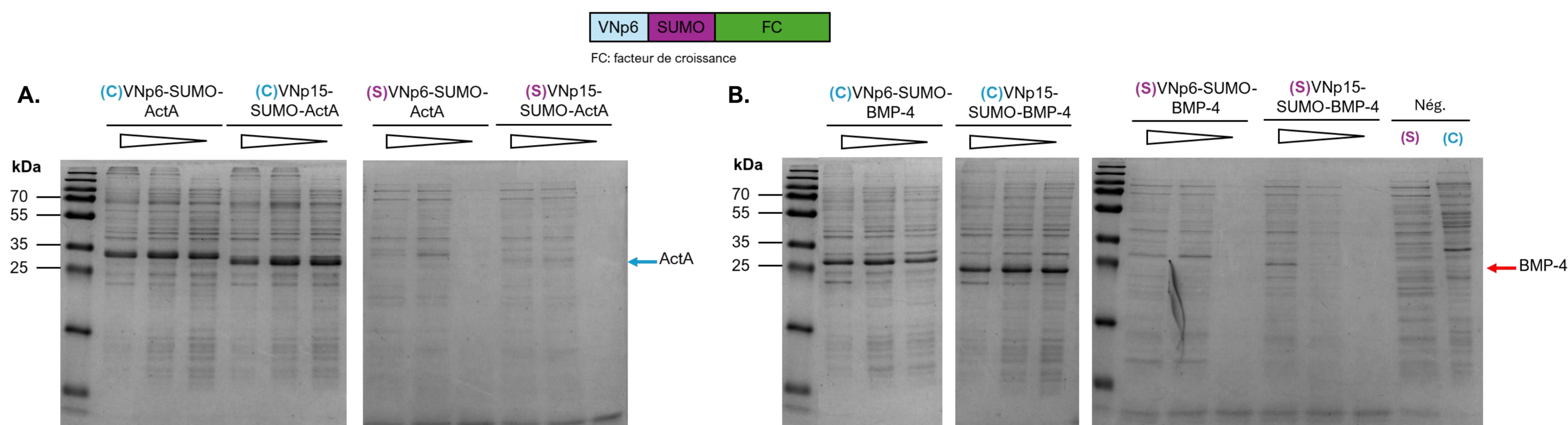


Figure 1 - Vérification de la localisation de l'actine A et de la BMP-4 exprimées par *E. coli* BL21(DE3) en fusion avec l'étiquette de solubilité SUMO. Les protéines (A) SUMO-actine A et (B) SUMO-BMP4 ont été produites pendant 24 h à différentes températures (37, 30 et 25 °C). Le peptide VNP6 est le plus efficace pour provoquer l'expression vésiculaire des deux facteurs de croissance (S). Les protéines restent néanmoins majoritairement à l'intérieur des cellules (C).

2. L'ajout d'agents augmente la localisation vésiculaire

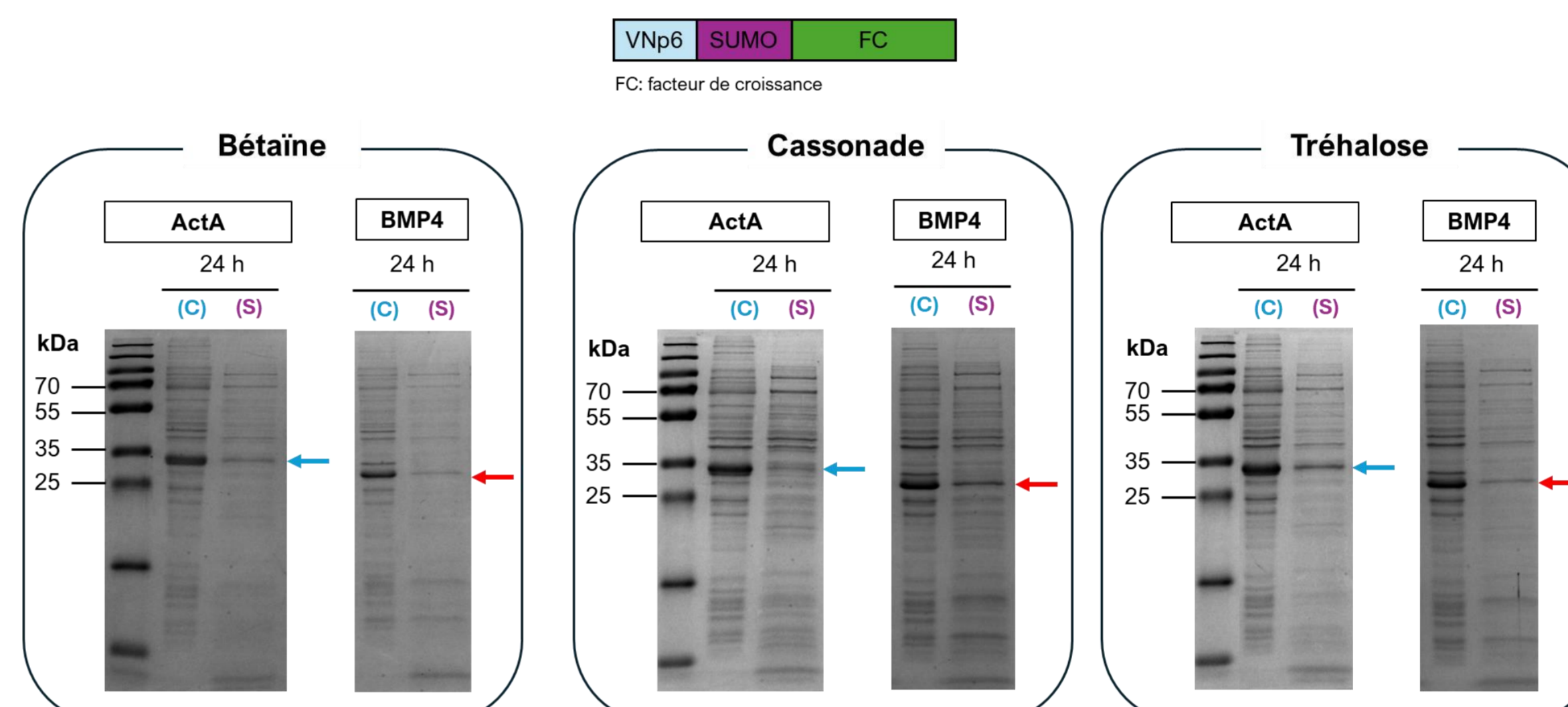


Figure 2 - Effet d'agents chimiques sur la localisation vésiculaire des facteurs de croissance. La bétaine, la cassonade et le tréhalose ont été utilisés pour provoquer un choc osmotique susceptible de libérer des cellules des vésicules contenant les facteurs de croissance. 24 h après l'initiation de l'expression des protéines, la cassonade a augmenté la proportion de BMP-4 se retrouvant dans le milieu de culture (S) par rapport au cellules (C). Le tréhalose a eu le même effet pour l'actine A.

3. Le retrait d'une étiquette de solubilité n'a pas d'effet sur la localisation vésiculaire

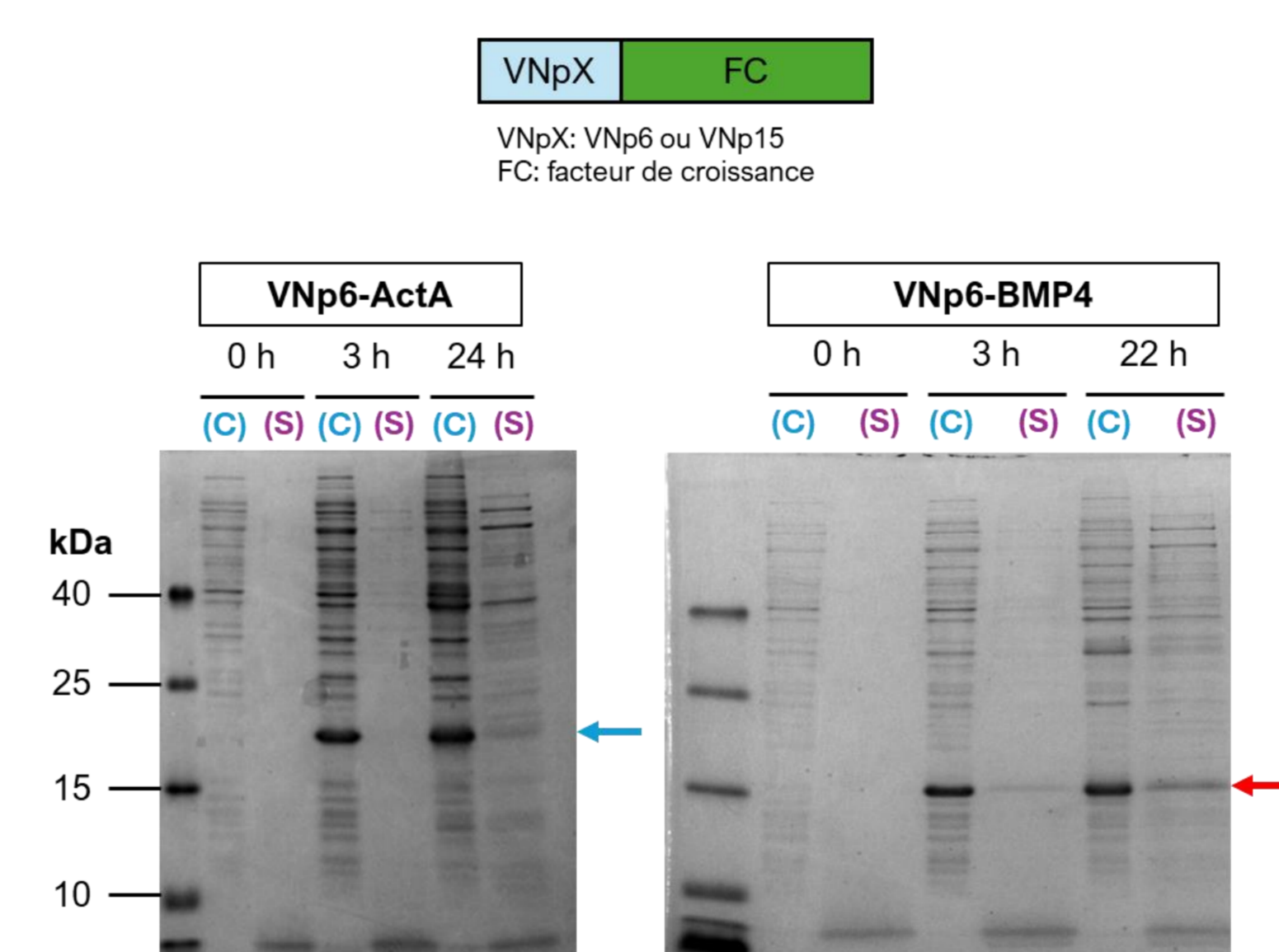


Figure 3 - Effet du retrait d'une étiquette de solubilité sur la localisation de l'actine A et de la BMP-4. Le retrait de SUMO a peu d'effet sur la proportion des facteurs de croissance se retrouvant dans les vésicules (S).

4. La localisation vésiculaire n'est pas augmentée par une stratégie de co-expression

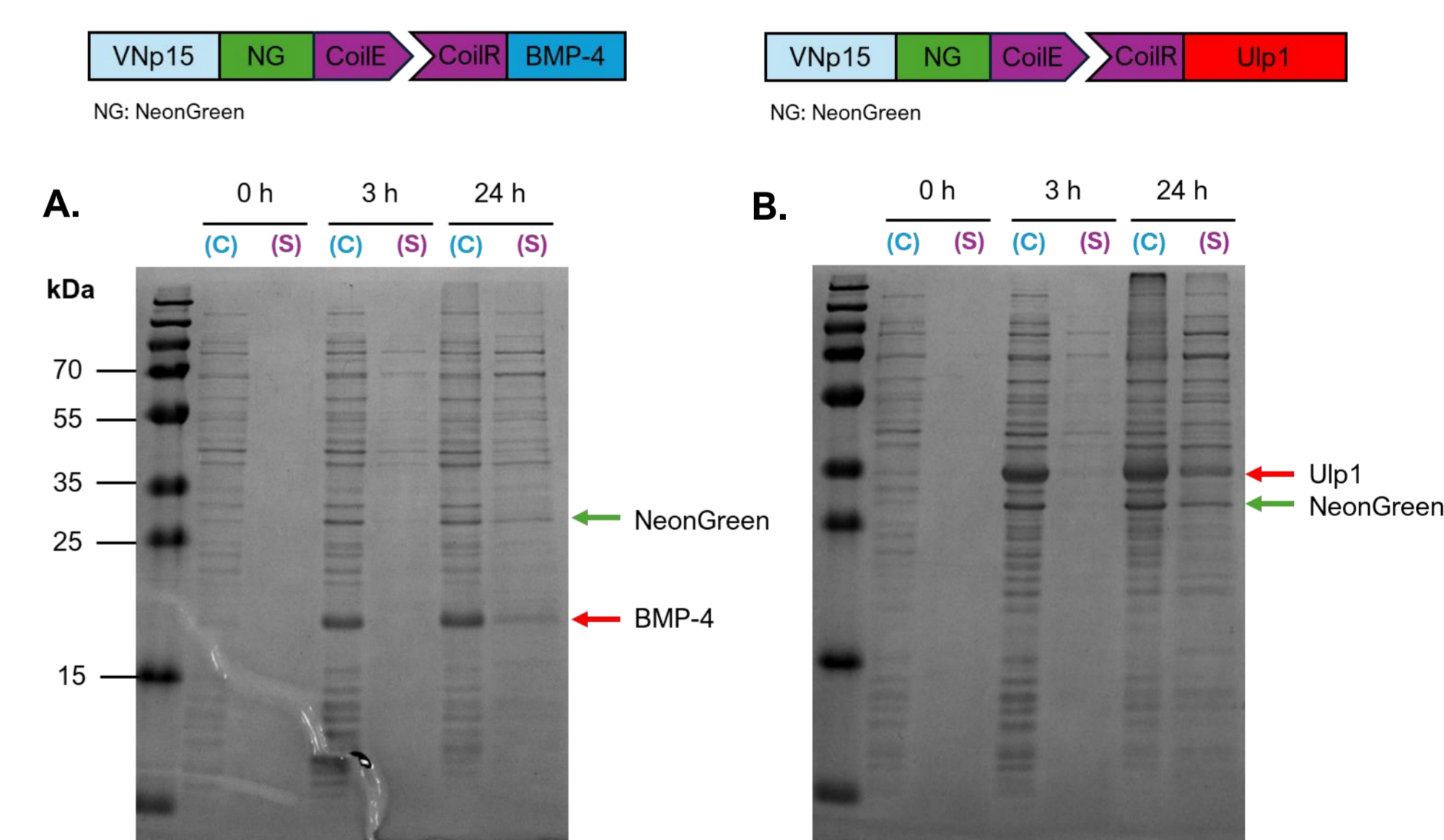


Figure 4 - Effet de la co-expression de protéines avec la protéine fluorescente NeonGreen. (A) Soluble, exprimée de façon importante et majoritairement localisée dans les vésicules, la protéine NeonGreen n'augmente pas la proportion de BMP-4 se retrouvant dans les vésicules. (B) Une protéine contrôlée très soluble (Ulp1) se retrouve elle aussi seulement partiellement dans les vésicules.

RÉFÉRENCES

1. Bhatwa A, Wang W, Hassan YI, et al. Challenges Associated With the Formation of Recombinant Protein Inclusion Bodies in *Escherichia coli* and Strategies to Address Them for Industrial Applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 9:630551. (2021). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.630551>.
2. Eastwood TA, Baker K, Streater BR, et al. High-yield vesicle-packaged recombinant protein production from *E. coli*. *Cell Rep Methods.* 3, 2 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2023.100396>.
3. Kim, D., Youn, J., Kim, J. et al. From organoid culture to manufacturing: technologies for reproducible and scalable organoid production. *npj Biomed. Innov.* 3, 12 (2026). <https://doi.org/10.1038/s44385-025-00054-6>

REMERCIEMENTS

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.

Nous désirons remercier Laurent Cappadocia et Alexandre Brisson (Université du Québec à Montréal) pour leur collaboration au projet, plus spécifiquement pour la conception de la stratégie de co-expression.