



Centre de  
Recherche du  
CHU Sainte-Justine  
*Le centre hospitalier  
universitaire mère-enfant*

*Pour l'amour des enfants*

Université   
de Montréal

## **INFRASTRUCTURES ET PLATEFORMES TECHNOLOGIQUES CENTRE DE CANCÉROLOGIE CHARLES-BRUNEAU**

**Axe maladies virales, immunitaires et cancers  
Pôle cancer et maladies immunitaires  
Centre de recherche du CHU Sainte-Justine**

## **Les plateformes technologiques du Centre de Cancérologie Charles-Bruneau**

---

Dès la création du Centre de Cancérologie Charles-Bruneau (CCCB), ses équipes ont développé une approche originale et novatrice d'intégration de la recherche fondamentale, de la recherche clinique, des soins, de l'enseignement, et de l'amélioration des pratiques et de la qualité de vie des patients. Une réflexion stratégique récente des équipes de soins et de recherche a amplifié ce mouvement, conduisant à l'élaboration, en 2006, de l'axe de recherche « maladies virales, immunitaires et cancers » et en 2008 à la concrétisation du pôle d'excellence « cancers et maladies immunitaires ».

Vous trouverez dans ce document, la description des plateformes stratégiques qui ont été priorisées par l'axe « maladies virales, immunitaires et cancers » ainsi que le pôle d'excellence « cancers et maladies immunitaires » du centre de recherche du CHU Sainte-Justine. Pour chaque plateforme, les coûts d'utilisation sont indiqués dans une grille tarifaire. La priorité sera donnée aux utilisateurs du CHUSJ. Les tarifs sont sujets à changement sans préavis selon le financement résiduel disponible.

- 1. BIOBANQUE DE CANCERS PÉDIATRIQUES**
- 2. PLATEFORME DE CRIBLAGE DE MOLÉCULES CHIMIQUES**
- 3. PLATEFORME ÉDITION DE GÈNES ET REPROGRAMMATION DES CELLULES**
- 4. PLATEFORME DE SOURIS HUMANISÉES – MODÈLES PRÉCLINIQUES**
- 5. PLATEFORME DE CYTOMÉTRIE DE FLUX**
- 6. PLATEFORME ELISPOT & LUMINEX**

## Biobanque de cancers pédiatriques

---

**Directeur scientifique: Dr Daniel Sinnett**

**Gestionnaire : Thomas Sontag ([thomas.sontag@recherche-ste-justine.qc.ca](mailto:thomas.sontag@recherche-ste-justine.qc.ca), 514-345-4931 ext. 3625)**

**Rationnelle** : L'accès à des échantillons biologiques de haute qualité liés aux données cliniques correspondantes est essentiel pour mener des projets de recherche translationnelle visant : 1) à identifier la base moléculaire des cancers pédiatriques courants et peu fréquents, sporadiques, familiaux ou syndromiques; 2) à définir la base de la susceptibilité aux effets toxiques des thérapies dans le but ultime de diminuer la morbidité associée aux traitements; et 3) à élaborer de nouvelles interventions thérapeutiques, incluant les divers aspects de la greffe de cellules souches hématopoïétiques. Pour répondre à ces défis, nous avons développé la biobanque de leucémie de l'enfant (Quebec Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia, QcALL) qui est en fonction depuis le printemps 1994. QcALL, une biobanque reconnue internationalement, permet l'entreposage, l'annotation et la mise à disposition à des fins de recherche du matériel biologique, et données cliniques, provenant d'un grand nombre de patients, de leurs parents et de personnes contrôles saines. Par l'entremise d'une base de données relationnelle, les échantillons sont liés avec les données moléculaires ainsi qu'avec les données cliniques et thérapeutiques, faisant ainsi le pont entre la recherche clinique et fondamentale. Ceci facilite l'intégration des données cliniques, démographiques et génétiques dans le but d'améliorer notre compréhension d'une maladie complexe comme la leucémie de l'enfant, ceci dans une perspective plus globale allant du gène à la population en passant par le patient. À partir de cette expertise, et avec le support de la Fondation du Centre de cancérologie Charles-Bruneau, nous planifions agrandir cette biobanque à l'ensemble des cancers de l'enfant. Ceci est d'autant plus pertinent que le CHU Sainte-Justine est responsable du diagnostic et du traitement de plus de ~60% de l'ensemble des cas de cancers pédiatriques de la province du Québec.

**Objectifs** : Les données et le matériel biologique recueillis supporteront divers types de recherche sur le cancer pédiatrique ayant comme objectifs :

- Génomique : Identification et caractérisation des déterminants génétiques du cancer
- Epidémiologie génétique : comprendre l'étiologie (la cause) de la maladie à l'aide d'études d'association
- Pharmacogénétique : élucider les facteurs génétiques responsables de la variabilité de la réponse thérapeutique et de la toxicité
- Protéomique : Identification et caractérisation des protéines comme marqueurs diagnostiques et pronostiques des complications pendant et après traitement
- Études cliniques : vérifier l'efficacité de nouvelles approches thérapeutiques
- Psychosociales : étudier l'impact de la maladie sur la qualité de vie des patients/survivants.
- Greffe de cellules souches : identification des facteurs associés à la réponse aux traitements et aux complications de la greffe

**Infrastructure disponible :**

- Manipulation et stockage des échantillons biologique : Congélateurs -80C, plateforme robotique, lecteur de code barre, système de quantification de l'ADN/ARN, etc.
- Développement et maintien de la base de données : serveur informatique sécurisé. Nous avons développé un système de gestion de base de données pour gérer la biobanque et les données de séquençage (données brutes et résultats des analyses).

## Plateforme de criblage de molécules chimiques

---

**Directeur scientifique: Dr Noël Raynal**

**Gestionnaire : Annie Beaudry ([annie.beaudry@recherche-ste-justine.qc.ca](mailto:annie.beaudry@recherche-ste-justine.qc.ca), 514-345-4931 ext. 4599)**

**Rationnelle :** Le criblage moléculaire est la technique de référence pour la recherche de nouvelles molécules susceptibles de devenir les outils de recherche ou les médicaments de demain. Il a pour objectif de découvrir, à partir de collections de molécules chimiques (chimiothèque) et de cibles pharmacologiques originales, de nouvelles molécules biologiquement actives. Ces molécules sont des outils pour la recherche et/ou des candidats médicaments. Situé au cœur d'un organisme de recherche publique, le centre de criblage pour des molécules bioactives bénéficie de l'expertise requise, notamment grâce au recrutement de Dr Noël Raynal, pour la réalisation de criblages sur des cibles fondamentales et originales. Les molécules isolées font ensuite l'objet de tests approfondis. Le développement d'une plateforme offrant un soutien à notre programme de découverte de thérapies alternatives est une priorité au sein de notre Institution. Cette plateforme pourra cribler plusieurs milliers de composés par jour pour une activité anticancéreuse potentielle dans des lignées cellulaires ou directement dans les cellules de patients (isolées à partir de souris humanisées si la quantité des cellules obtenues à partir de biopsies n'est pas suffisante). Les composés seront achetés à partir de collections de molécules (chimiothèque) disponible commercialement.

Cette nouvelle plateforme de criblage permettra d'identifier de nouvelles cibles moléculaires et des molécules spécifiques à ces cibles dans le cadre de projets de recherche clinique et translationnelle.

### **Objectifs :**

- Sélection de molécules actives dans le contexte cellulaire
- Évaluation de l'efficacité thérapeutique de molécules directement sur les cellules
- Identification de la toxicité et des effets non spécifiques
- Analyse de l'effet d'un médicament ou une molécule sur des types cellulaires spécifiques
- Isolement de molécules capables d'interférer avec une fonction sans que soit nécessaire une connaissance approfondie des mécanismes impliqués

### **Infrastructure disponible :**

- Système de criblage de médicaments à haut débit (Guava (Model 8HT) de EMD-Millipore); Système automatisé de pipetage à haute débit; Hotte à flux laminaire; Incubateur

### **Grille tarifaire :**

	<b>CHUSJ</b>	<b>Académique</b>	<b>Secteur privé</b>
Criblage avec assistance (tarif horaire) *	70\$*	90\$*	180\$*

\* Le prix excluant le coût des consommables (milieu cellulaire, molécules, consommables nécessaires à l'expérience)

## Plateforme édition de gènes et reprogrammation des cellules

---

**Directeur scientifique : Dr Christian Beauséjour**

**Gestionnaires : Édition du génome - Romain Gioia ([romaingioia1@gmail.com](mailto:romaingioia1@gmail.com), 514-345-4931 ext. 4158)**

**Reprogrammation cellulaire - Basma Benabdallah ([basma.benabdallah@gmail.com](mailto:basma.benabdallah@gmail.com), 514-345-4931, ext. 6531)**

### **Rationnelle :**

**Édition du génome.** La possibilité de modifier de façon ciblée le génome est essentielle dans tous les domaines de la biologie, autant pour la génomique fonctionnelle, la création d'organismes génétiquement modifiés d'intérêt expérimental, médical, biotechnologique ou industriel, que dans des perspectives de thérapie génique. Aujourd'hui des approches existent pour produire des modifications contrôlées du génome de façon efficace. Ces méthodes reposent sur l'induction d'une coupure ciblée associée ou non à un fragment d'ADN donneur/correcteur. Des résultats très prometteurs d'édition de gènes ont été obtenus dans différents types de systèmes biologiques, incluant les cellules humaines. Une nouvelle génération d'outils pour la réparation du génome, basée sur le système CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), est maintenant disponible pour la communauté scientifique. Le système CRISPR/cas9 sera largement développé et utilisé comme méthode de mutation ciblée en raison de son efficacité, son coût et la rapidité avec laquelle on peut modifier sa spécificité par rapport aux autres systèmes de nucléases artificielles.

**Reprogrammation cellulaire.** La capacité d'auto-renouveau des cellules souches pluripotentes induites (iPSC) permet d'obtenir en quantité illimitée de cellules autologues de patients et ce à partir d'un simple échantillon de sang ou d'une biopsie. Ces cellules peuvent être obtenues dans une période de 10-12 semaines et cela sans contrainte éthique. Au-delà de leurs applications en médecine régénérative, il est attendu que ces cellules permettront de valider les mutations associées aux maladies génétiques et au développement tumoral. En d'autres mots, nous pourrions recréer des modèles des maladies/cancers soit en utilisant directement le matériel biologique du patient ou en jumelant la technologie des CRISPRs. L'utilisation de cellules iPS permettra également de comprendre les mécanismes cellulaires impliqués dans diverses pathologies et d'accélérer le criblage de thérapies. De plus, nous prévoyons que cette technologie s'arrimera parfaitement avec la plateforme de souris humanisées afin par exemple de valider chez la souris la fonctionnalité des cellules souches créées *in vitro* avant de procéder à des essais thérapeutiques chez l'humain.

**Objectifs :** Offrir un soutien technologique et scientifique hautement spécialisé aux équipes de recherches qui voudraient utiliser les méthodes de reprogrammation et de modification du génome dans leurs projets de recherche.

**Infrastructure disponible :** La plateforme est opérée à partir des espaces de laboratoire de Dr Beauséjour.

**Grille tarifaire :**

			CHU Sainte-Justine	Académique	Secteur privé
<b>Tarifification CRISPR</b>	<b>Module 1 :</b> construction et validation de vecteurs CRISPR	Vecteur d'expression transitoire	625\$/Vecteur	1250\$/Vecteur	Établissement d'un devis après discussion
		Vecteur lentiviral	750\$/Vecteur	1500\$/Vecteur	
	<b>Module 2 :</b> Knock-out de gènes par approche CRISPR	Lignée cellulaire*	1250\$/gène/ lignée cellulaire	2500\$/ gène / lignée cellulaire	
		hPSC + CRISPR	Établissement d'un devis après discussion		
	<b>Module 3 :</b> Knock-in par approche CRISPR	Lignée cellulaire*	2200\$ / gène / lignée cellulaire	4400\$ / gène / lignée cellulaire	
		hPSC + CRISPR	Établissement d'un devis après discussion		
<b>Reprogrammation cellulaire (iPSC)</b>	<b>Module 1 :</b> à partir de fibroblastes de peau	Caractérisation phénotypique	**1,550\$	**3,100\$	Établissement d'un devis après discussion
		Caractérisation complète	***2,300\$	***4,600\$	
	<b>Module 2 :</b> à partir de cellules de sang périphérique congelé	Caractérisation phénotypique	**1,750\$	**3,500\$	
		Caractérisation complète	***2,500\$	***5,000\$	

\* La lignée cellulaire doit être transfectable/transduisible avec les procédures standards.

\*\* Caractérisation par immunocytologie pour chacun des deux clones.

\*\*\* Le prix inclut la production de deux clones caractérisés, la formation de tératomes pour chacun des deux clones ainsi que leurs caryotypes.

*Les prix indiqués pour les utilisateurs du CHUSJ sont fixés à 50% du prix courant. La priorité sera donnée aux utilisateurs du CHUSJ.*

## Plateforme de souris humanisées – modèles précliniques

---

**Directeur scientifique:** Dr Élie Haddad

**Gestionnaire :** Kathie Béland ([kathie.beland@recherche-ste-justine.qc.ca](mailto:kathie.beland@recherche-ste-justine.qc.ca), 514-345-4931 ext. 4583)

**Rationnelle :** Cette plateforme a été mise en place afin de fournir aux chercheurs des modèles précliniques et un outil d'études *in vivo* pertinent dans de nombreux domaines mais particulièrement en oncologie. Les modèles animaux humanisés nous permettent de réaliser des études qui seraient autrement impossibles chez l'homme telle que des études sur l'oncogenèse, sur la réponse aux médicaments anti-cancéreux en général ou bien de manière personnalisée pour chaque patient, ainsi que sur le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques, notamment en immunothérapie du cancer.

À l'aide de modèles précliniques mimant les situations cliniques, nous sommes présentement en mesure d'étudier des cancers pédiatriques tels que la leucémie et le neuroblastome. Plus encore, l'humanisation de ces souris avec un système immunitaire humain nous permet de disséquer les interactions entre le système immunitaire et le cancer ainsi que d'étudier la reconstitution immunitaire suivant la greffe de cellules souche hématopoïétique (à partir de sang de cordon). Également, ces modèles nous permettent d'étudier la physiopathologie de la Graft-vs-Host disease (GvHD) et de mettre au point des stratégies innovantes pour la traiter. Ces modèles précliniques reproduisent la réalité clinique et constituent des outils de recherche indispensables pour les études *in vivo* précliniques de nouvelles stratégies thérapeutiques ainsi que pour des études physiopathologiques.

La plateforme offre actuellement 4 souches différentes de souris qui permettent la prise de la greffe de cellules cancéreuses et d'un système immunitaire humain. Nous offrons : 1) la souris *Nod/Scid/gammac<sup>-</sup>* (NSG) déficientes en lymphocytes T, B et NK et possédant des fonctions de cellules dendritiques déficientes; 2) la souris NSG qui est aussi déficiente en cKit murin, ce qui permet une meilleure prise de greffe du système immunitaire tout en évitant l'irradiation; 3) cette même souris cKit-déficiente mais sous un fond génétique Rag; et 4) une souris immunodéficiente (*Rag2<sup>-</sup>/gammac<sup>-</sup>*) qui est déficiente en CMH de souris et transgénique pour Sirp-alpha, ce qui permet une bonne prise de greffe, sans GvHD. De plus, nous avons développé au cours des dernières années une souris humanisée plus sophistiquée à laquelle on greffe un thymus humain, permettant une éducation des cellules T, afin d'avoir un système immunitaire plus fonctionnel (souris BLT). La plateforme assure la qualité (génotypage, phénotypage) et la distribution en nombre suffisant des souris. De plus, nous offrons des services d'injections des souris (IV, IP, IO et SC), le suivi de la prise de greffe et de l'état général des animaux. Nous pouvons réceptionner, préparer et conserver des cellules et des tissus dans notre banque de cryopréservation pour différentes équipes de recherche. Nous offrons aussi une expertise scientifique afin de concevoir chez les animaux les expériences pertinentes à la problématique exposée par le chercheur. Nous assurons également le suivi des projets et résolvons les problèmes au fur et à mesure de l'avancement des projets.

**Objectifs :** Offrir aux chercheurs des modèles précliniques, des outils d'études *in vivo* pertinents ainsi qu'une expertise solide qui permettront d'étudier, entre autres, des cancers pédiatriques et de développer des nouvelles thérapies.

**Infrastructure disponible :** Notre plateforme comprend l'hébergement et la gestion des colonies de souris décrites ci-dessus. L'infrastructure supportant cette plateforme a été acquise à l'aide de subventions FCI : Les souris sont hébergées dans des supports ventilés, dans un environnement « *Pathogen free* ». Nous avons un irradiateur pour préparer les animaux à la greffe et un système d'imagerie *in vivo* qui permet le suivi des tumeurs sans sacrifier l'animal. Nous possédons un robot pour trier des populations de cellules (RoboSep) et, pour un tri plus exigeant, nous avons la possibilité de trier des cellules à l'aide du FACS Aria grâce à la plateforme de cytométrie. Nous faisons aussi de suivi de l'humanisation des animaux à l'aide d'analyses en cytométrie de flux.

**Grille tarifaire :**

	<b>CHUSJ</b>	<b>Académique</b>	<b>Secteur privé</b>
Souris	10\$/souris	20,00\$/souris	40,00\$/souris
Per Diem	1,00\$/cage/jour	2,00\$/cage/jour	4,00\$/cage/jour
Service	28,00\$/hr	40,00\$/hr	80,00\$/hr



## Plateforme de cytométrie de flux

---

**Directeurs scientifiques :** Drs Françoise Le Deist et Hélène Decaluwe

**Gestionnaire :** Ines Boufaied ([ines.boufaied@recherche-ste-justine.qc.ca](mailto:ines.boufaied@recherche-ste-justine.qc.ca), 514-345-4931 ext. 4440)

**Rationelle :** La cytométrie en flux est une technique qui permet de mesurer et d'analyser différents paramètres à partir de prélèvements sanguins, notamment en mesurant simultanément plusieurs caractéristiques physiques d'une cellule. Les cellules en suspension passent une à une devant un ou plusieurs faisceau(x) laser et des détecteurs captent les signaux de fluorescence émis par chaque cellule de même que la lumière diffusée. Les données ainsi recueillies se présentent sous forme de graphiques ou d'histogrammes auxquels s'ajoutent des statistiques concernant les populations cellulaires et les paramètres étudiés. Par ailleurs, certains appareils permettent de faire un tri, c'est-à-dire de séparer physiquement des sous-populations de cellules selon des critères définis : les cellules ainsi isolées (purifiées) peuvent alors servir pour d'autres types d'expériences.

**Objectifs :** La plateforme couvre les besoins en cytométrie en flux des chercheurs du Centre de cancérologie Charles-Bruneau prioritairement. Nous offrons les services suivants :

- Analyse multiparamétrique des cellules et d'autres particules permet le repérage et l'analyse phénotypique et fonctionnelle de populations cellulaires rares ou complexes.
- Tris à haut débit pour la purification de sous-populations discrètes de cellules primaires (sang périphérique ou autres tissus) ou de lignées cellulaires. Ces tris, sécurisés et protégés, permettent ultérieurement des études fonctionnelles ou moléculaires ou des analyses biochimiques ou cytogénétiques.
- Formation pratique à l'utilisation du cytomètre analyseur de la plateforme pour les utilisateurs et soutien à la communauté scientifique.

**Infrastructure disponible :** Au sein de notre Institution, nous avons plusieurs cytomètres de flux, dont un trieur de cellules (FACS Aria II), et quatre analyseurs (FACS Fortessa, 2 FACScalibur et 1 FASCCanto II) pour le phénotypage cellulaire précis.

- Cytomètre analyseur-trieur ARIA II (BD Biosciences): tri haute vitesse, 3 lasers (violet, bleu et rouge) 3 buses de diamètres différents, module de clonage, en confinement L2.
- Cytomètre de flux CANTO II (BD Biosciences) : 8 couleurs-2 lasers.
- Cytomètre de flux FORTESSA (BD Biosciences): 16 couleurs-4 lasers dont un U.V.
- Cytomètre de flux FACScalibur (BD Biosciences) 4 couleurs, 1 laser 488 nm, 1 diode 635 nm.

### Grille tarifaire :

Cytométrie (tarif horaire)	CHUSJ	Académique	Secteur privé
Acquisition – sans assistance	20\$	40\$	90\$
Acquisition et/ou Analyse – avec assistance	45\$	90\$	180\$
Tri	45\$	90\$	180\$

**Politique d'accès et priorités :** Les tris sont effectués uniquement par le personnel de la plateforme qui a reçu une formation spécifique. Tous les utilisateurs des cytomètres analyseurs doivent être connus du personnel de la plateforme. Tous les utilisateurs éventuels de la plateforme de cytométrie en flux doivent recevoir une formation, donnée par son personnel, avant d'y avoir accès. L'accès à la plateforme sera accordé lorsque l'utilisateur aura

terminé sa formation. Seuls les utilisateurs autonomes sont autorisés à utiliser les cytomètres sans l'assistance du personnel de la plateforme. Une liste des utilisateurs autonomes est définie et validée par le gestionnaire. L'acquisition des échantillons est faite soit, sans assistance, par l'utilisateur déclaré autonome soit avec assistance par le personnel de la plateforme (en prestation).

## Plateforme ELISpot & Luminex

---

**Directeurs scientifique: Drs Hugo Soudeyns et Daniel Sinnett**

**Gestionnaires : ELISpot - Hinatea Dieumegard ([hinatea.dieumegard@gmail.com](mailto:hinatea.dieumegard@gmail.com), 514 345-4931 ext. 6218)**

**Luminex - Chantal Richer ([cricher.hsj@gmail.com](mailto:cricher.hsj@gmail.com), 514-345-4931 ext. 6143)**

### **Rationnelle :**

**ELISpot.** La technique de l'ELISpot (« enzyme-linked immunospot assay ») est un dosage cellulaire simple, sensible, précis et polyvalent qui permet de détecter et de dénombrer différentes cellules qui sécrètent une protéine spécifique. Le dosage ELISpot, qui repose sur une épreuve d'immuno-absorption enzymatique (ELISA), a été initialement développé pour l'analyse de cellules spécifiques sécrétant des anticorps, et a été adapté pour mesurer les fréquences des cellules qui produisent et sécrètent d'autres molécules effectrices (interleukine-2, interféron-g, perforine, etc.). En fonction du facteur analysé, le test ELISpot est 2 à 3 fois plus sensible que la cytométrie en flux classique. Le dénombrement des cellules réactives suite à la révélation enzymatique se fait au moyen d'un lecteur ELISpot capable d'effectuer des mesures répétées hautement reproductibles, et ce à haut débit. Cet appareil s'avère un outil précieux pour les équipes de recherche qui souhaitent analyser la réponse des cellules immunitaires dirigée contre des cellules cancéreuses, par exemple.

**Luminex.** Cette technologie, basée sur le principe d'un ELISA combiné à de la cytométrie en flux, permet le dosage simultané de nombreuses cibles protéiques ou nucléiques dans de faibles volumes d'échantillons. Un test ELISA peut être facilement converti en un dosage Luminex xMAP et, grâce aux bienfaits de multiplexage, plusieurs anticorps peuvent être projetés simultanément pour identifier une paire d'anticorps optimal, ce qui entraîne une sensibilité accrue et une gamme dynamique, tout en réduisant les coûts du test. Luminex permet l'application de la technologie xMAP® qui fait appel à l'utilisation de microsphères qui sont soit des billes en polystyrène soit des billes magnétiques colorées par un mélange de deux fluorochromes dont le ratio est connu et parfaitement défini pour chaque type de billes. Il existe ainsi un panel de 100 microbilles différentes suivant le mélange de fluorochromes réalisé. Ces billes servent ensuite de support solide à différentes molécules se liant de façon covalente par des groupements aminés. Ces molécules peuvent être de nature variable et les plus courantes sont : (i) des antigènes purifiés; (ii) des récepteurs; (iii) différents anticorps de capture; (iv) des sondes nucléiques.

**Infrastructure disponible :** L'appareil ELISpot est un CTL ImmunoSpot S5 UV Analyzer (Cellular Technology Ltd.). Une personne ressource (Hinatea Dieumegard) offre du soutien aux utilisateurs et maintient l'appareil. L'appareil Luminex 100/200 xMAP est localisé au Centre de cancérologie Charles-Bruneau. Une personne ressource (Chantal Richer) offre du soutien aux utilisateurs et maintient l'appareil.