

Institut Clinique de la Souris



www.ics-mci.fr

Journées Francophones de Nutrition
Bordeaux 11-13 décembre 2013

Institut Clinique de la Souris
Centre européen de recherche en biologie et en médecine
CERBM
gie

Guillaume Pavlovic
Responsable du département d'ingénierie
génétique et validation des modèles



Déclaration d'intérêts en rapport avec la présentation

- **Activités de conseil, fonctions de gouvernance, rédaction de rapports**

Non

- **Essais cliniques, autres travaux, communications de promotion**

Non

- **Intérêts financiers (actions, obligations)**

Non

- **Liens avec des personnes ayant des intérêts financiers ou impliquées dans la gouvernance**


Non

- **Réception de dons sur une association dont je suis responsable**

Non

- **Détention d'un brevet, rédaction d'un ouvrage utilisé par l'industrie**

Non

A photograph of a small, light-colored mouse being held gently in a person's hands. The mouse is facing right, and its body is the central focus of the image. The background is a soft, out-of-focus light color.

**Pourquoi travailler avec des souris
génétiquement modifiées :
les dernières avancées
technologiques et les nouvelles
ressources disponibles**

Le contexte



60

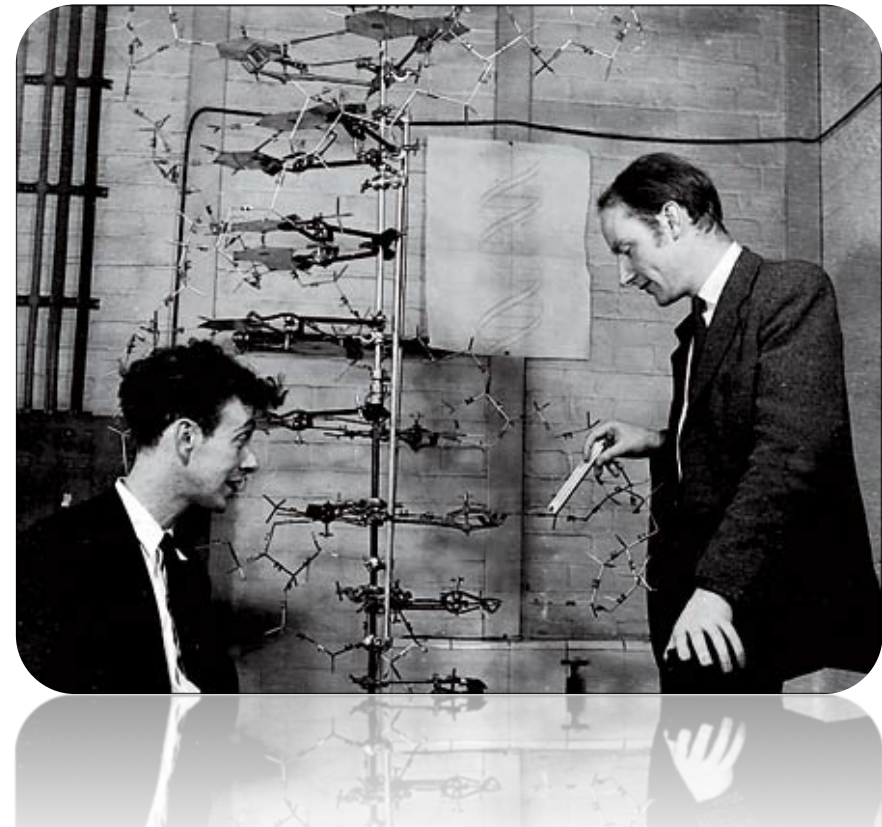
12



Le contexte

Il y a **60** ans déjà, Watson et Crick découvraient la structure en hélice double brin de l'ADN

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid
Watson J.D. and Crick F.H.C.
Nature **171**, 737-738 (1953)



Le contexte



Il y a **60** ans **premier pas vers le**
concept de génome

Il y a **12** ans **disponibilité de la**
séquence du génome



Aujourd'hui : qu'avons-nous compris sur les fonctions du génome ?



Oxymore

« Nous savons beaucoup de choses
... mais nous ne savons pas grand-chose »

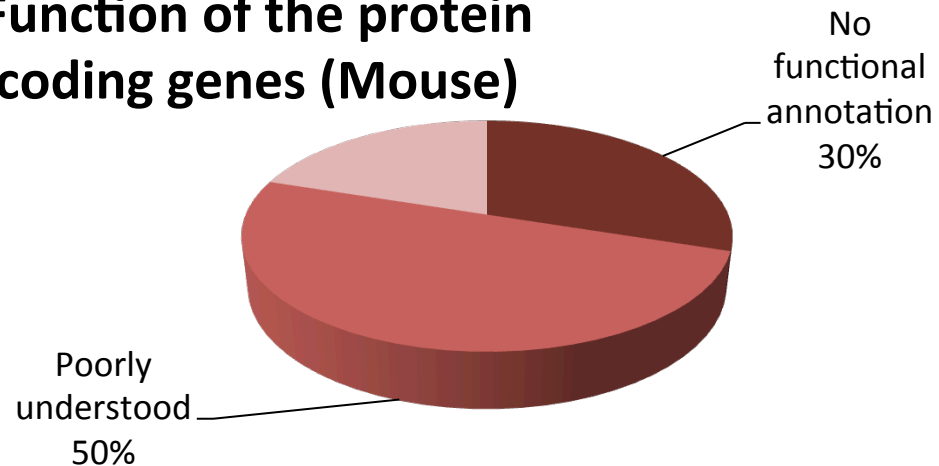


Aujourd'hui : qu'avons-nous compris sur les fonctions du génome ?



La fonction de 80% des gènes codant des protéines est pas ou mal connue

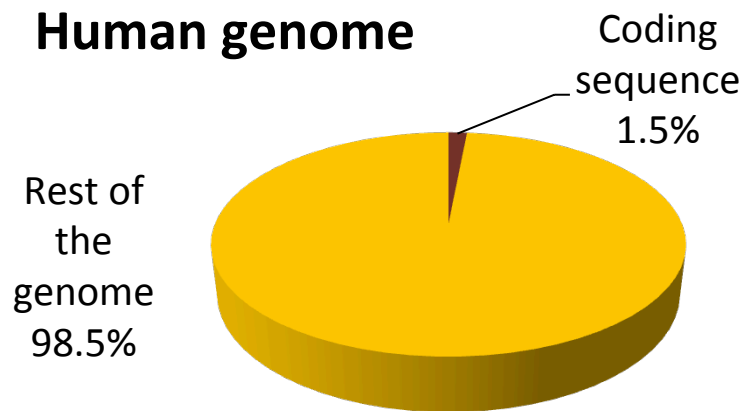
Function of the protein coding genes (Mouse)



Aujourd'hui : qu'avons-nous compris sur les fonctions du génome ?



La fonction du « reste » (= 98,5%) du génome est très mal connue



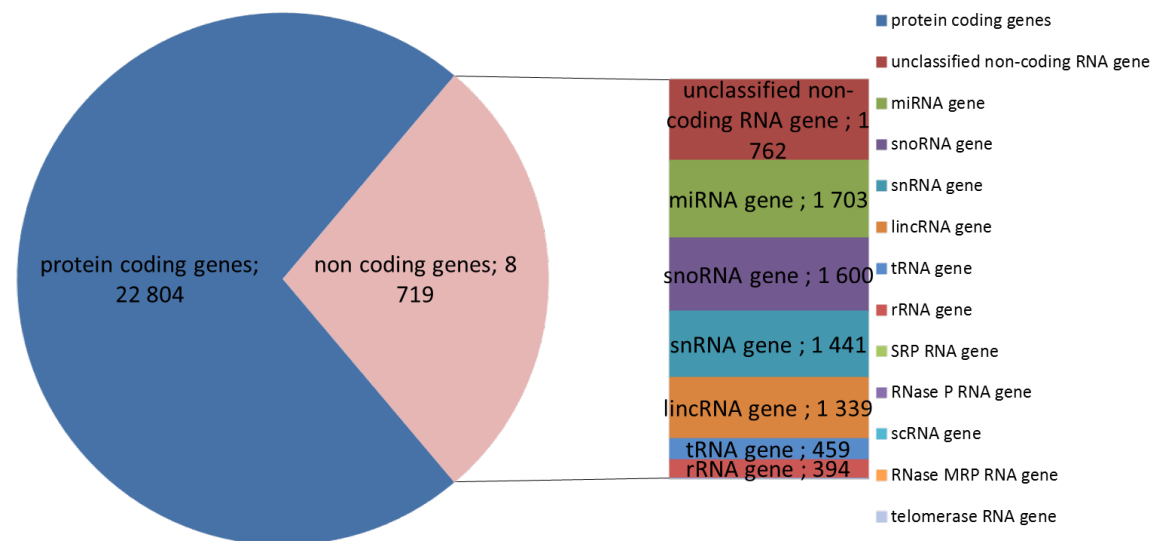
Aujourd'hui : qu'avons-nous compris sur les fonctions du génome ?



La fonction du « reste » (= 98,5%) du génome est très mal connue

- mais est riche en séquences ayant une fonction (miRNA, lincRNA, desert island)

MGI extract April 2013- The genes in the mouse genome



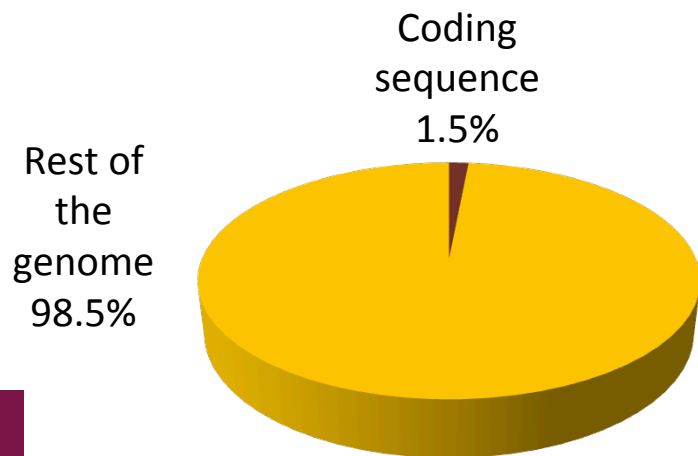
Aujourd'hui : qu'avons-nous compris sur les fonctions du génome ?



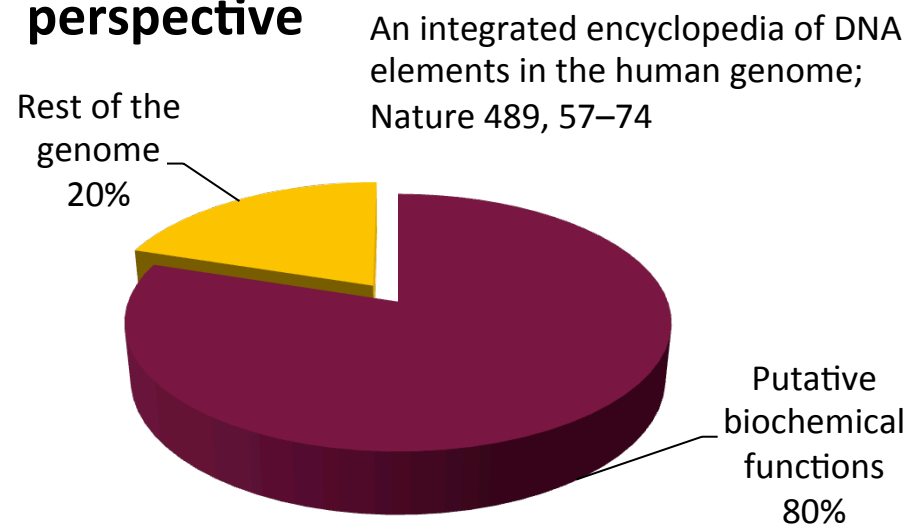
La fonction du « reste » (= 98,5%) du génome est très mal connue

- mais est riche en séquences ayant une fonction (miRNA, lncRNA, desert island)

Human genome



Human genome- ENCODE perspective



Aujourd'hui : qu'avons-nous compris sur les fonctions du génome ?



La compréhension des maladies multifactorielles et polygénétiques est pauvre

La compréhension de l'aneuploïdie (nombre anormal de copies d'éléments génétiques) est pauvre



Pourquoi travailler avec des souris génétiquement modifiées : les dernières avancées technologiques et les nouvelles ressources disponibles



Mon but

Les souris génétiquement modifiées : un outil formidable

- Pour connaître les gènes
- Pour comprendre les maladies
- Et aussi dans le domaine de la nutrition



Pourquoi travailler avec des souris génétiquement modifiées : les dernières avancées technologiques et les nouvelles ressources disponibles



Mon but

Les souris génétiquement modifiées : un outil formidable

- Par la richesse des ressources et des technologies disponibles
- Grace à PHENOMIN, par la simplicité d'utilisation pour les « non spécialistes », par le panel d'outils pour les spécialistes



Pourquoi travailler avec des souris génétiquement modifiées : les dernières avancées technologiques et les nouvelles ressources disponibles



Deux grands projets

PHENOMIN – l'infrastructure française en phéno génomique de la souris

- de la création d'une souris génétiquement modifiée à son phénotypage

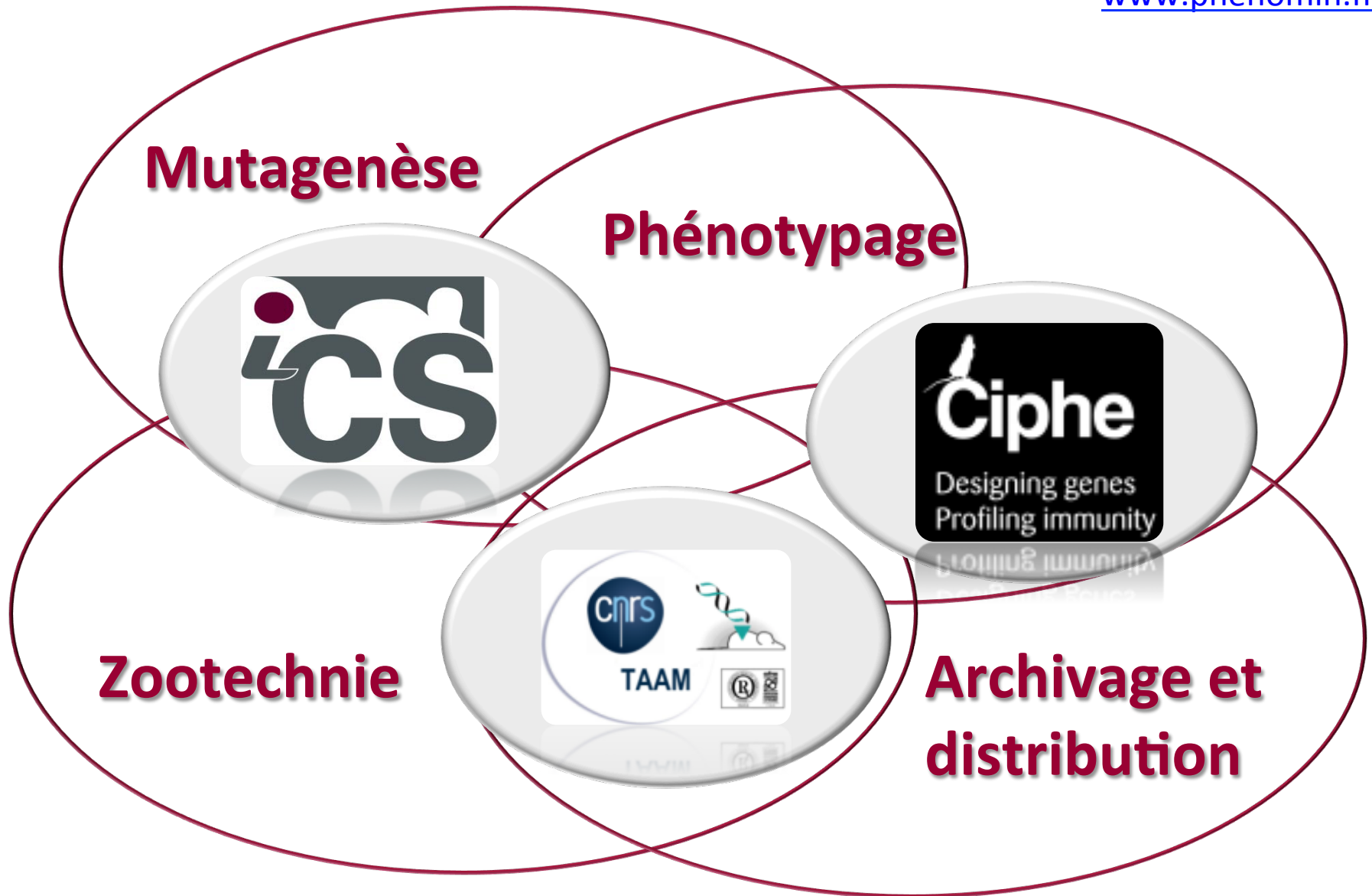
IMPC – décryptons le génome codant de la souris



Le regroupement de 3 structures de premier plan

phenomin





Nos objectifs



www.phenomin.fr/

Soutenir la recherche fondamentale française

Développer de nouveaux outils

Participer aux étapes « basic research » de développement de nouveaux médicaments

Collaborer au sein de grands consortiums multinationaux



Nos objectifs



www.phenomin.fr/

Soutenir la recherche fondamentale française

- **1500 modèles / 900 projets phénotypés**

Développer de nouveaux outils

Participer aux étapes « basic research » de développement de nouveaux médicaments

- **6 / 14 « big » pharma**

Collaborer au sein de grands consortiums multinationaux

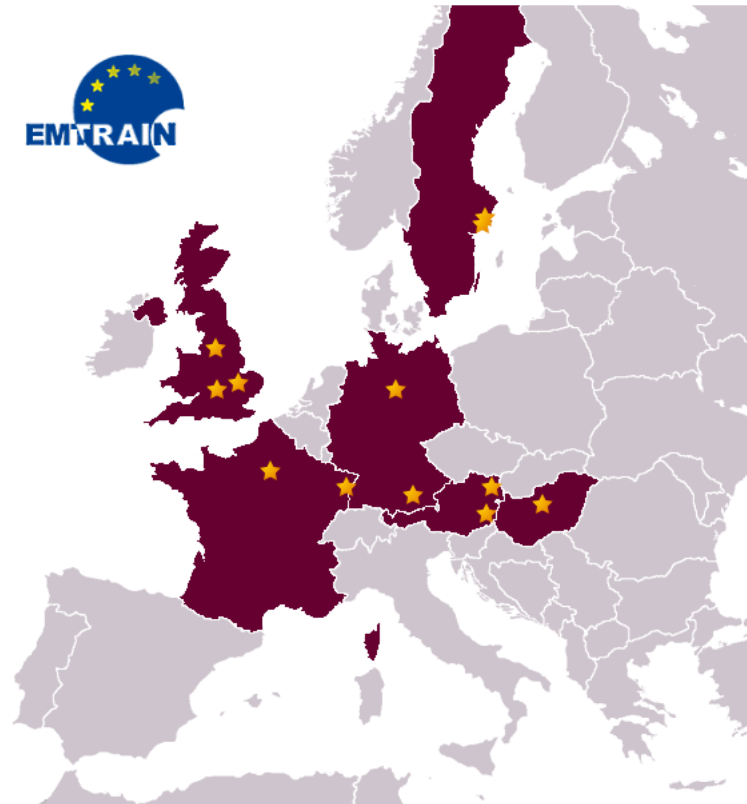
- **rien qu'à l'ICS: 18 consortiums**



Intégration européenne



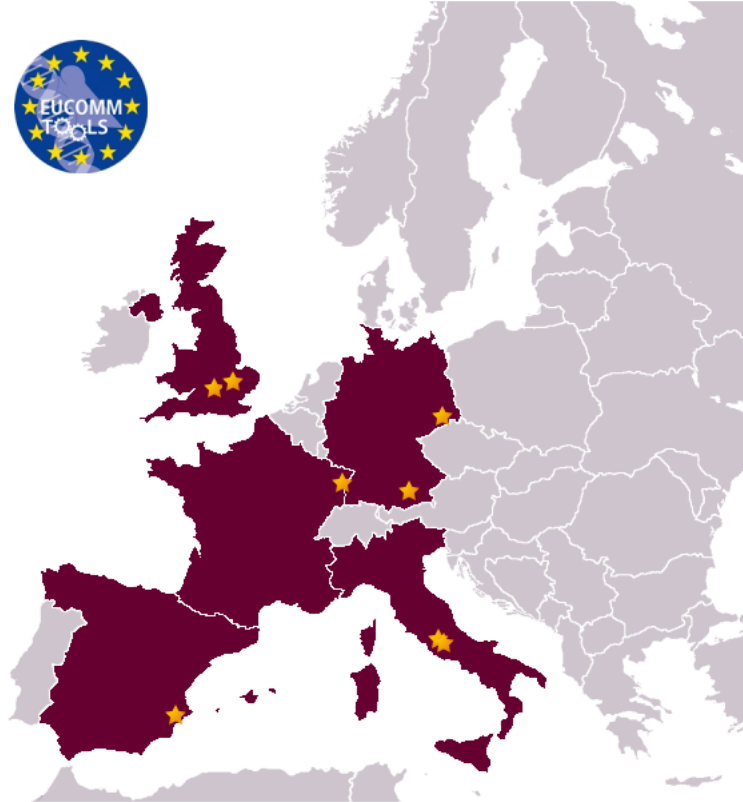
18 consortiums
européens



Intégration européenne



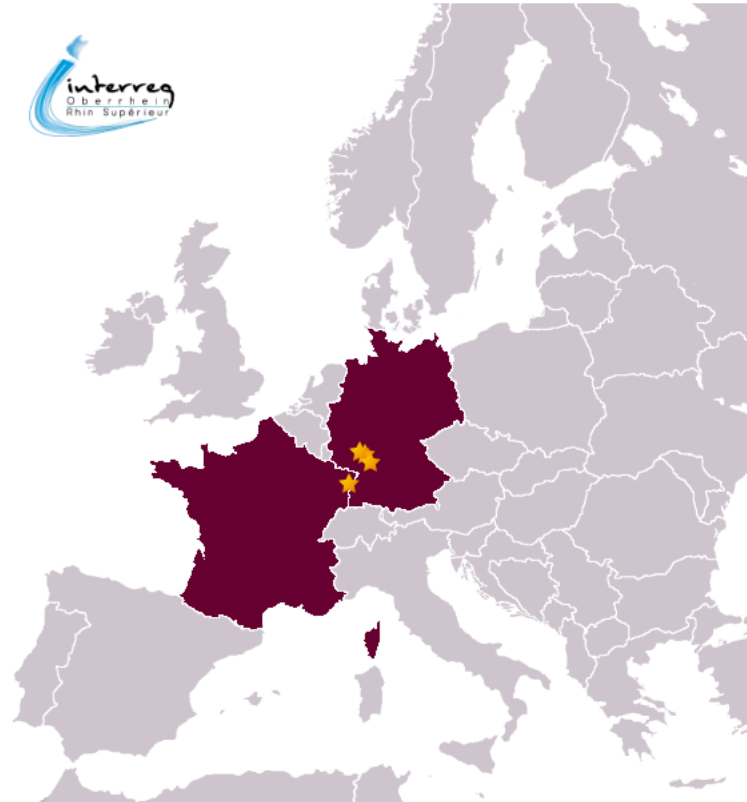
18 consortiums
européens



Intégration européenne

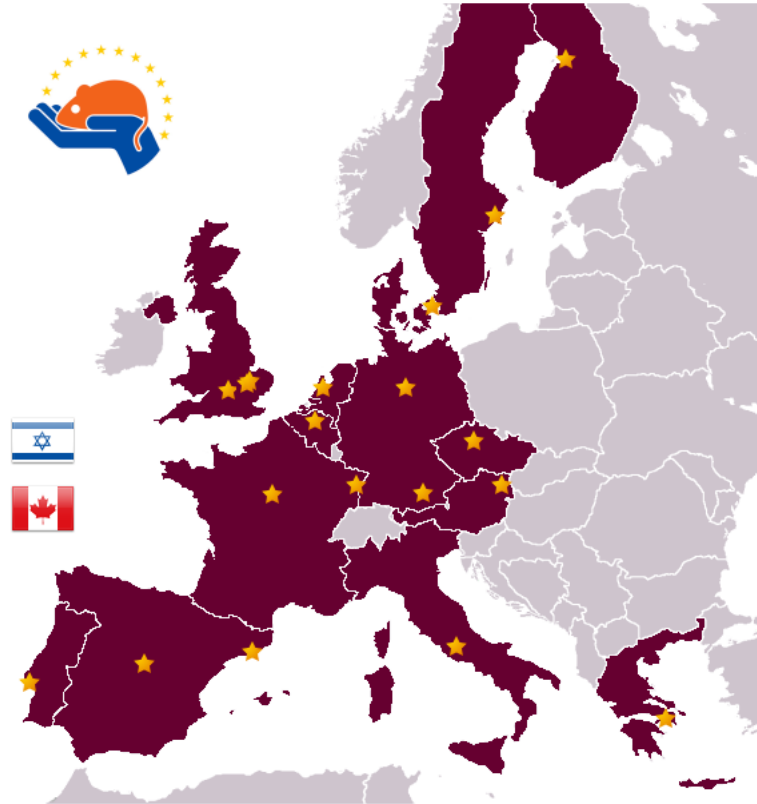


18 consortiums
européens



Intégration européenne

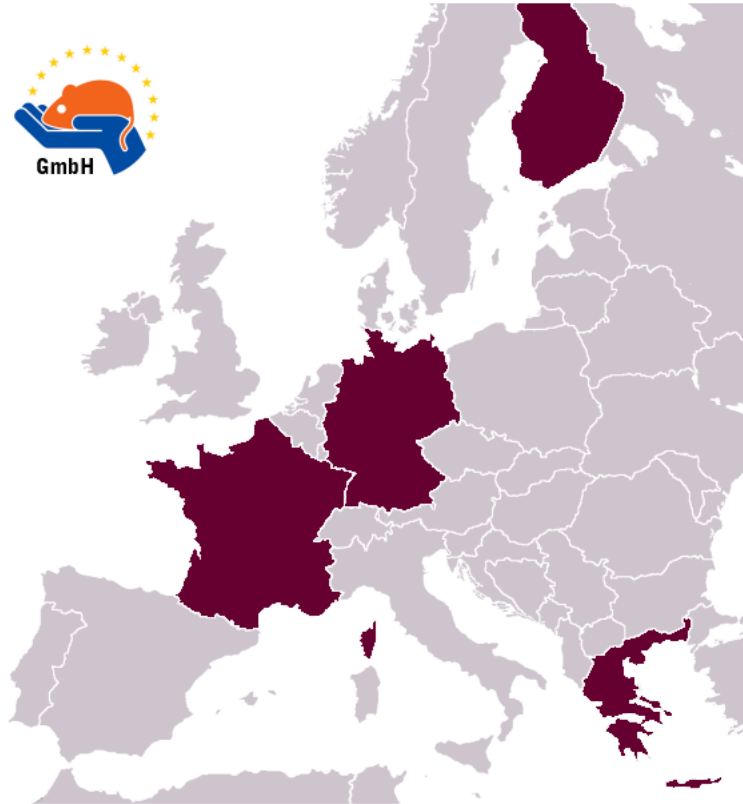
18 consortiums
européens



Intégration européenne



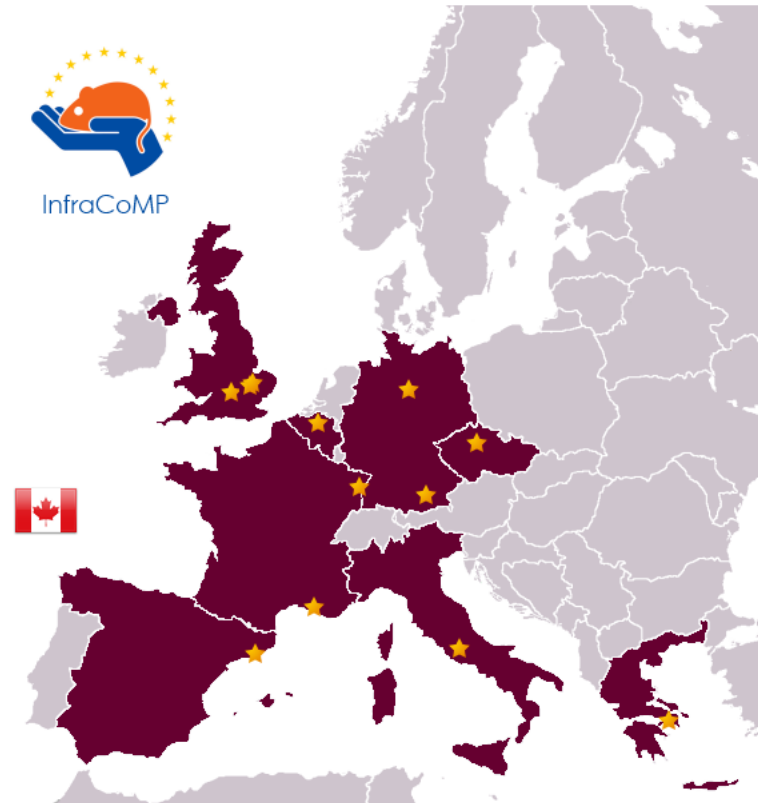
18 consortiums
européens



Intégration européenne



18 consortiums
européens



Intégration européenne



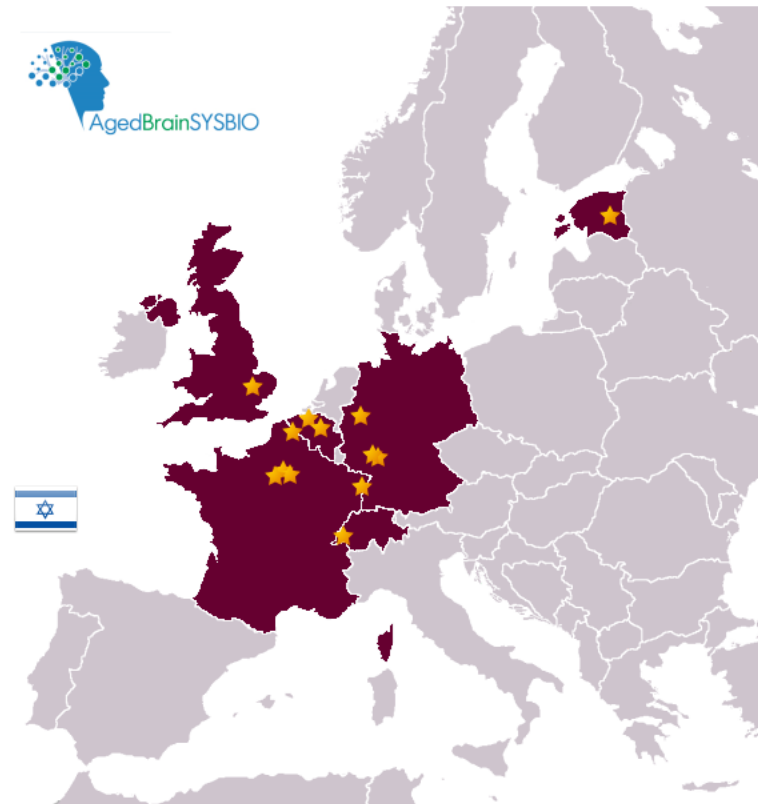
18 consortiums
européens



Intégration européenne



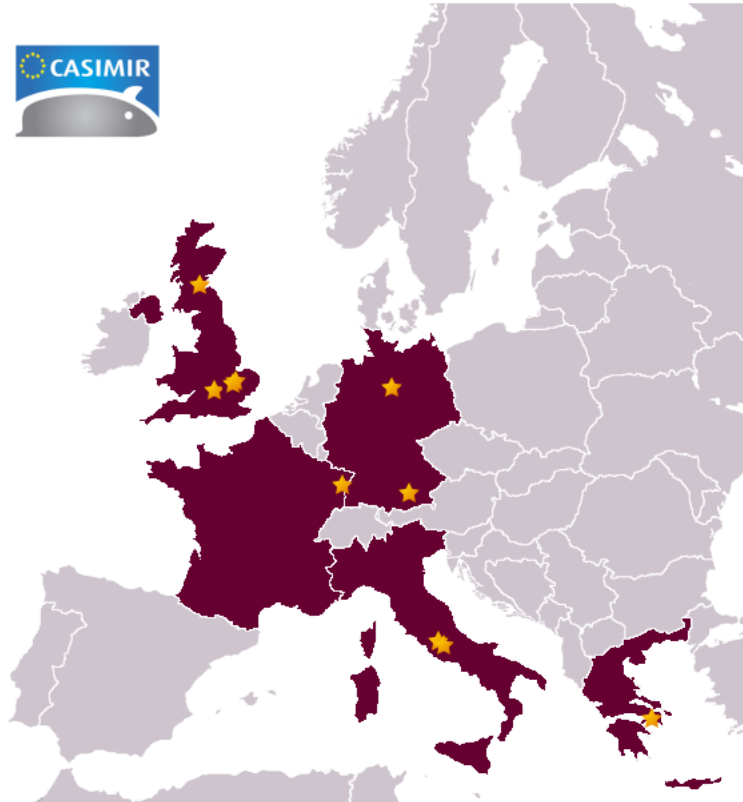
18 consortiums
européens



Intégration européenne

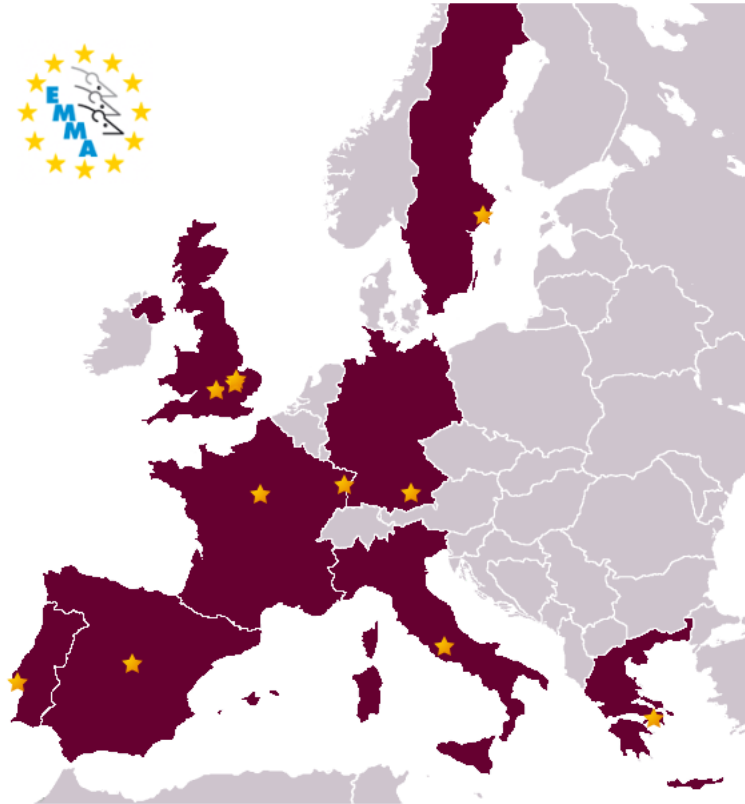


18 consortiums
européens



Intégration européenne

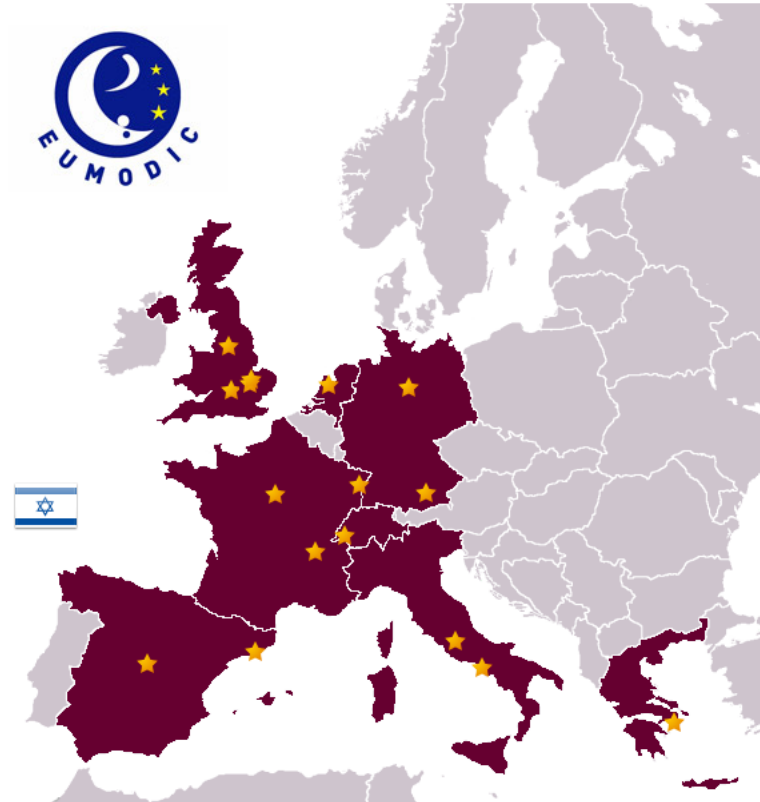
18 consortiums
européens



Intégration européenne



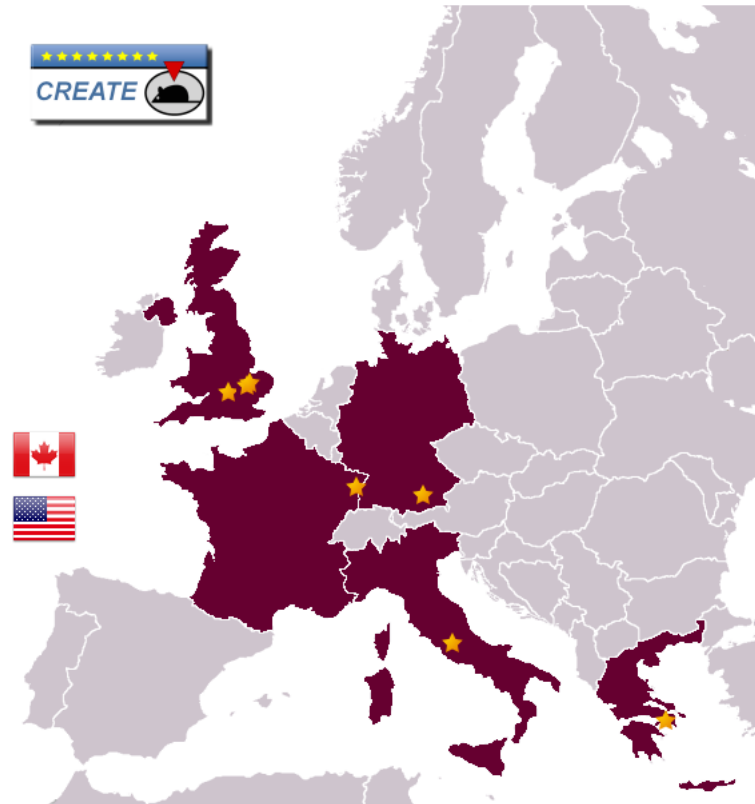
18 consortiums
européens



Intégration européenne

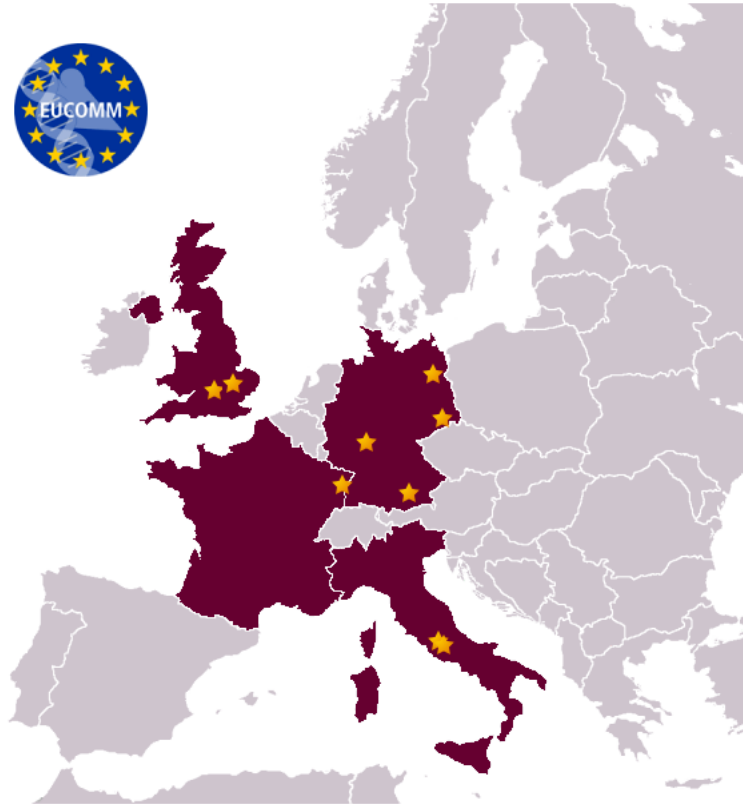


18 consortiums
européens



Intégration européenne

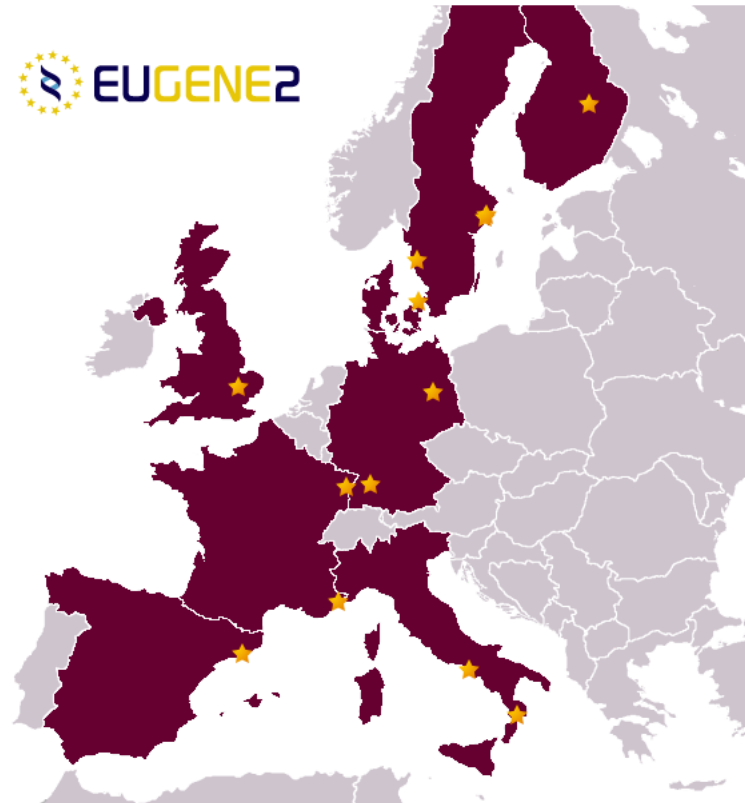
18 consortiums
européens



Intégration européenne



18 consortiums
européens

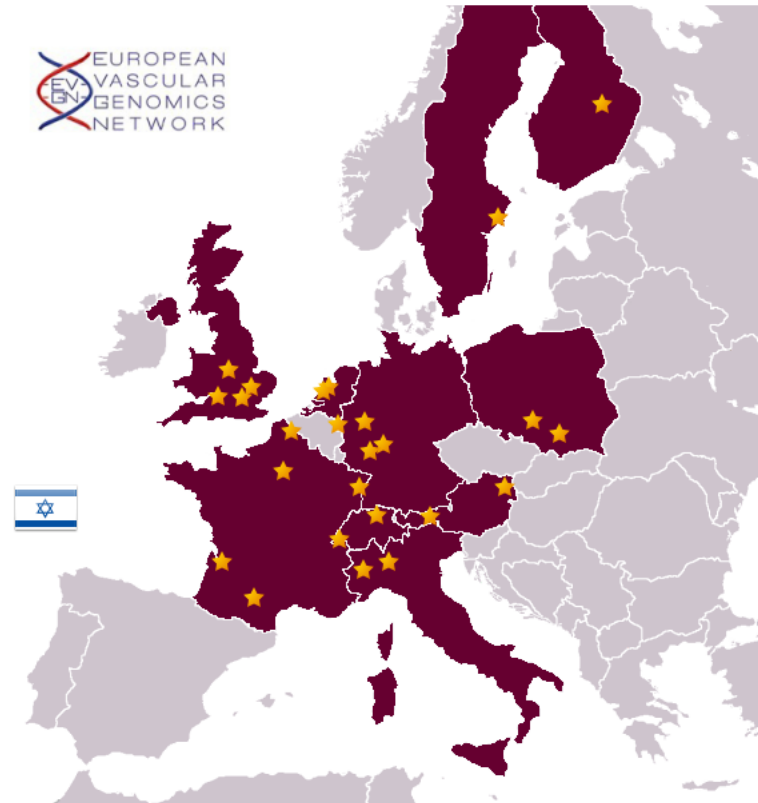


 EUGENE2

Intégration européenne



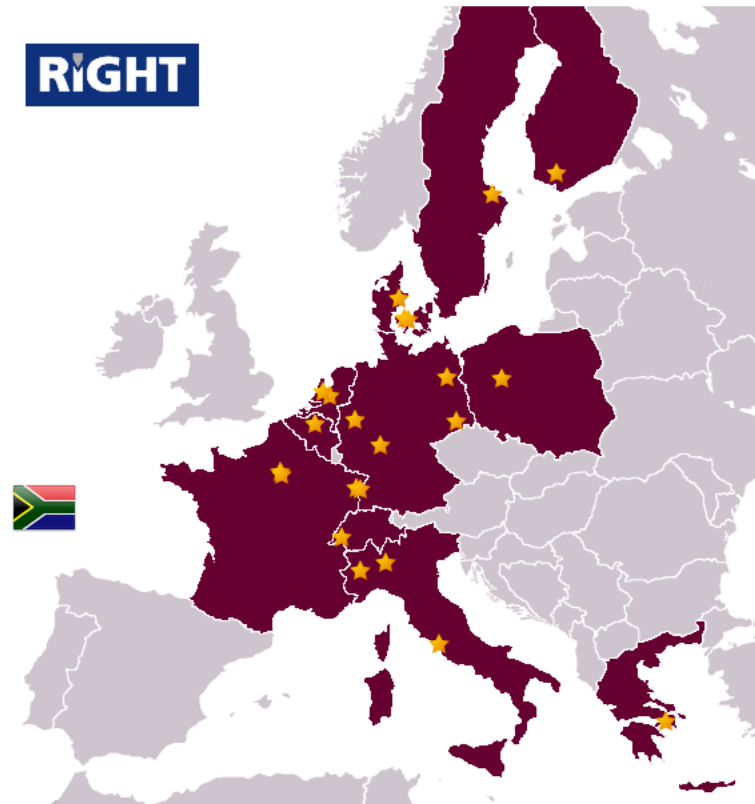
18 consortiums
européens



Intégration européenne



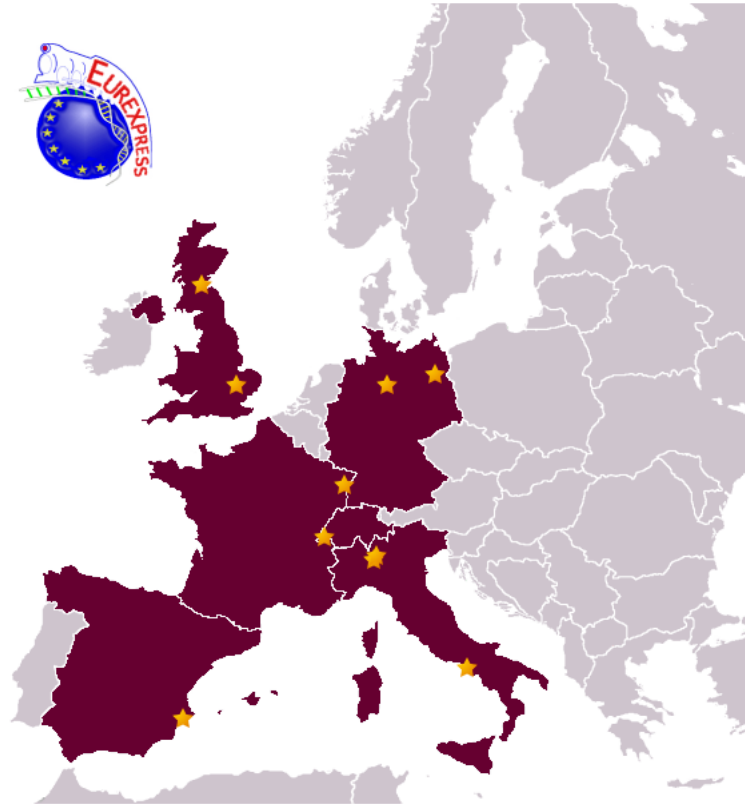
18 consortiums
européens



Intégration européenne



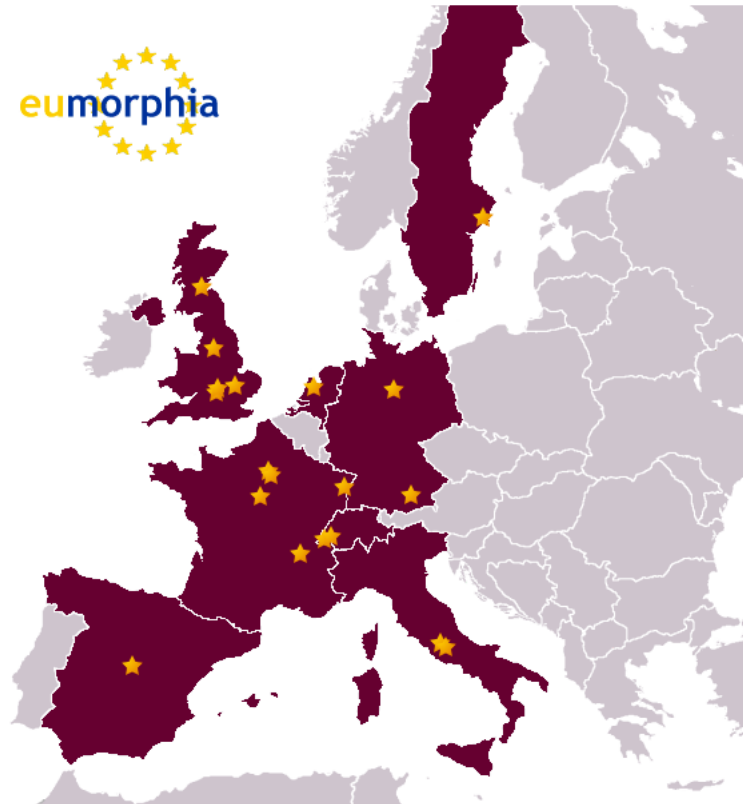
18 consortiums
européens



Intégration européenne



18 consortiums
européens



Un large panel de modifications génétiques

phenomin

www.phenomin.fr/

Par recombinaison homologue en cellules ES

- Knock out constitutif
- Knock out conditionnel
- Knock out tissu spécifique
- Knock in
- Mutation ponctuelle
- Humanisation
- Mutagenèse ciblée
- Modèles de CNV

Fonds génétiques :

- C57BL/6N, BALB/cN et 129Sv/Pas
- C57BL/6J*

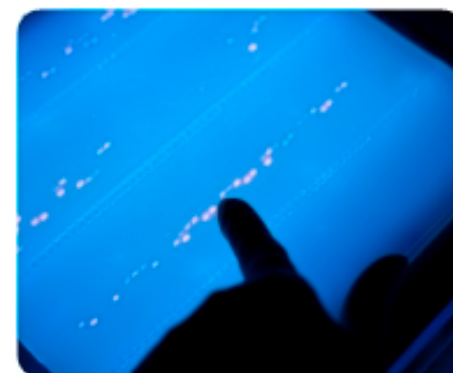
* En cours de développement

Par injection dans les oocytes

- PNI BAC et plasmide
- PNI par transposition*
- Lentivirus*
- ZFN/TALENs/CRISPR-Cas *

Induction chimique

- Mutagenèse ENU (Immunologie)*

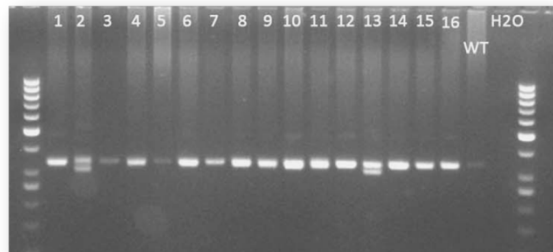


Nucleases

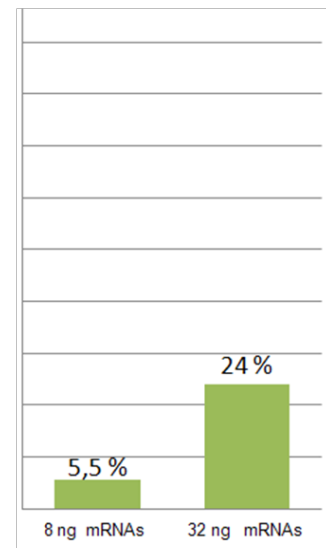
Développement de modèles de souris (TALEs et ZFNs)

- ✓ Knock-out
- ✓ Mutation ponctuelle

Microinjection condition : 8 ng both mRNAs + 8 ng circular plasmid

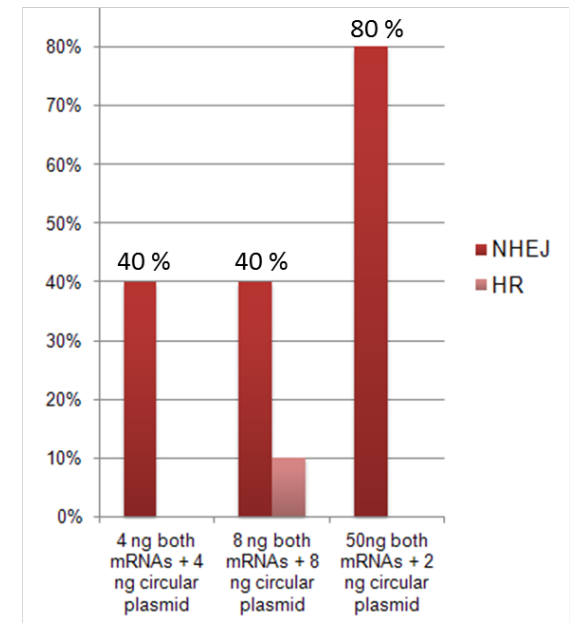


WT
mut corrected+indel
No seque
del 3NTs + others
WT
WT
del 3 NTs
del 8 NTs
del 11 NTs
del 9 NTs + others
WT
del 26 NTs
WT
WT
WT



Test 2 : Inactivation Gene X

Good efficiency of NHEJ
Inactivation of the gene achieved !



Test 3 : Correction of mutation

Very good efficiency of NHEJ
Homologous recombination achieved !



Des rats génétiquement modifiés

phenomin

www.phenomin.fr/

Rats génétiquement modifiés

- Par injection de cellules ES mutantes*
- Comportement / Cardiologie / Urologie



Photo : premiers rats chimériques issus de l'injection d'un clone ES mutant obtenu à l'ICS

* En cours de développement

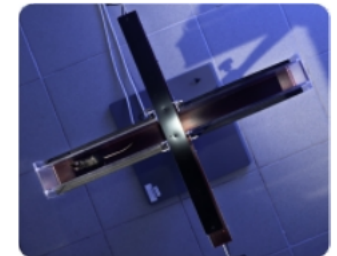
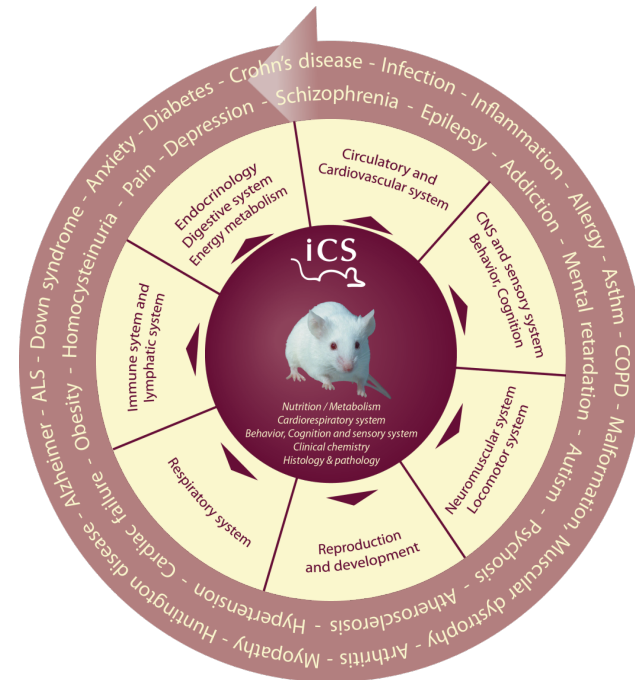
Plus de 250 tests de phénotypage

phenomin

www.phenomin.fr/

Systèmes biologiques

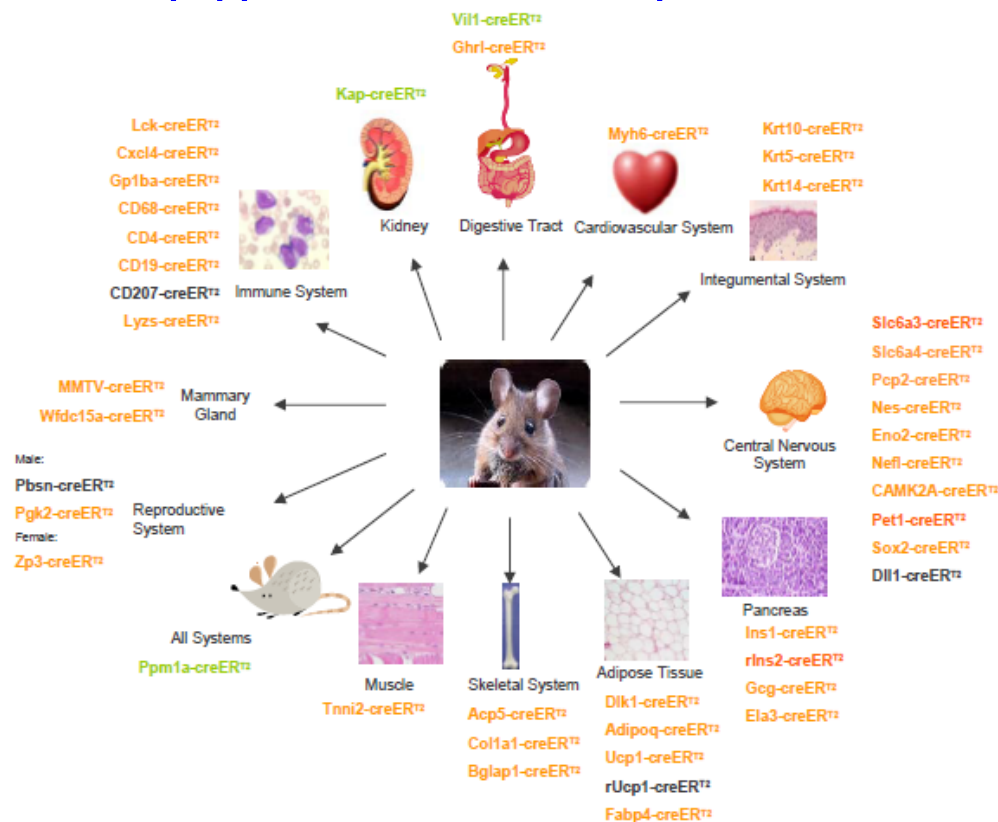
- Métabolisme et la nutrition
- Comportement
- Cardiologie
- Fonctions pulmonaires
- Biochimie clinique et hématologie
- Histologie et anatomo-pathologie
- Embryologie et reproduction
- Immunologie et inflammation*
- Infection*
- Imagerie*
- Allergie et système respiratoire*
- Système neuromusculaire*
- Morphologie cranio-faciale et du squelette*



* En cours de développement

Un exemple de ressource

- 43 promoteurs différents exprimant la protéine creERT2
 - Ces 43 lignées ont été caractérisées de manière standard
- <http://www.ics-mci.fr/mousecre>




The screenshot shows the MouseCre website interface. At the top, there is a navigation menu with links for 'search', 'exp. procedure', 'link', 'faq', 'faq map', and 'legal notice'. The main content area is titled 'Welcome to the Mouse Cre and CreER² zoo' and includes a brief introduction and a 'Necessary' section with a table of characterized lines.

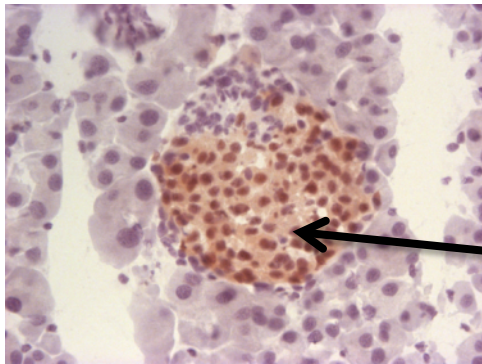
gene and line	no
lines tested for cre expression	43
lines tested for cre activity	43
lines cre generated	43

Below the table, there are several links for further information, including 'What is a creER² mouse?', 'Why developing this resource?', 'Further information about the resource', and 'About ICS'.



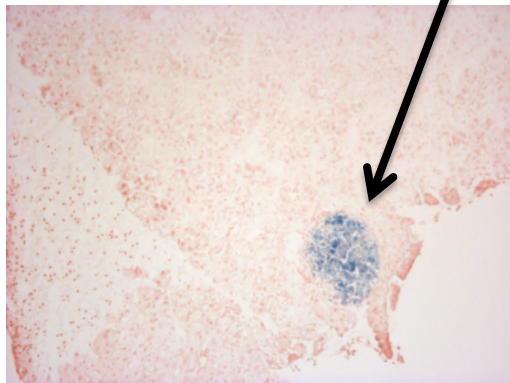
Caractérisation de la lignée Ins1-creER^{T2} /

Activité cre au niveau anatomique

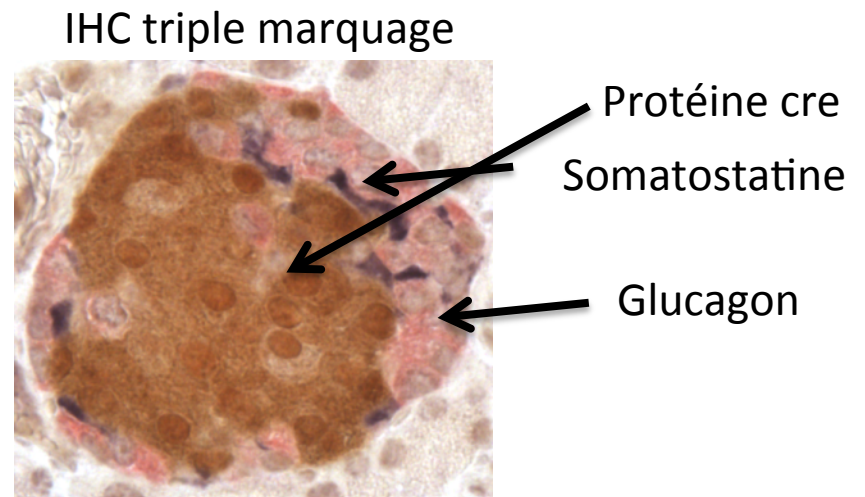


- Spécificité de l'expression de la creER^{T2} aux cellules attendues
- Translocation dans le noyau en présence de Tamoxifène

Pancréas - îlots de Langerhans



Lignée reportrice – coloration β-galactosidase



IHC triple marquage

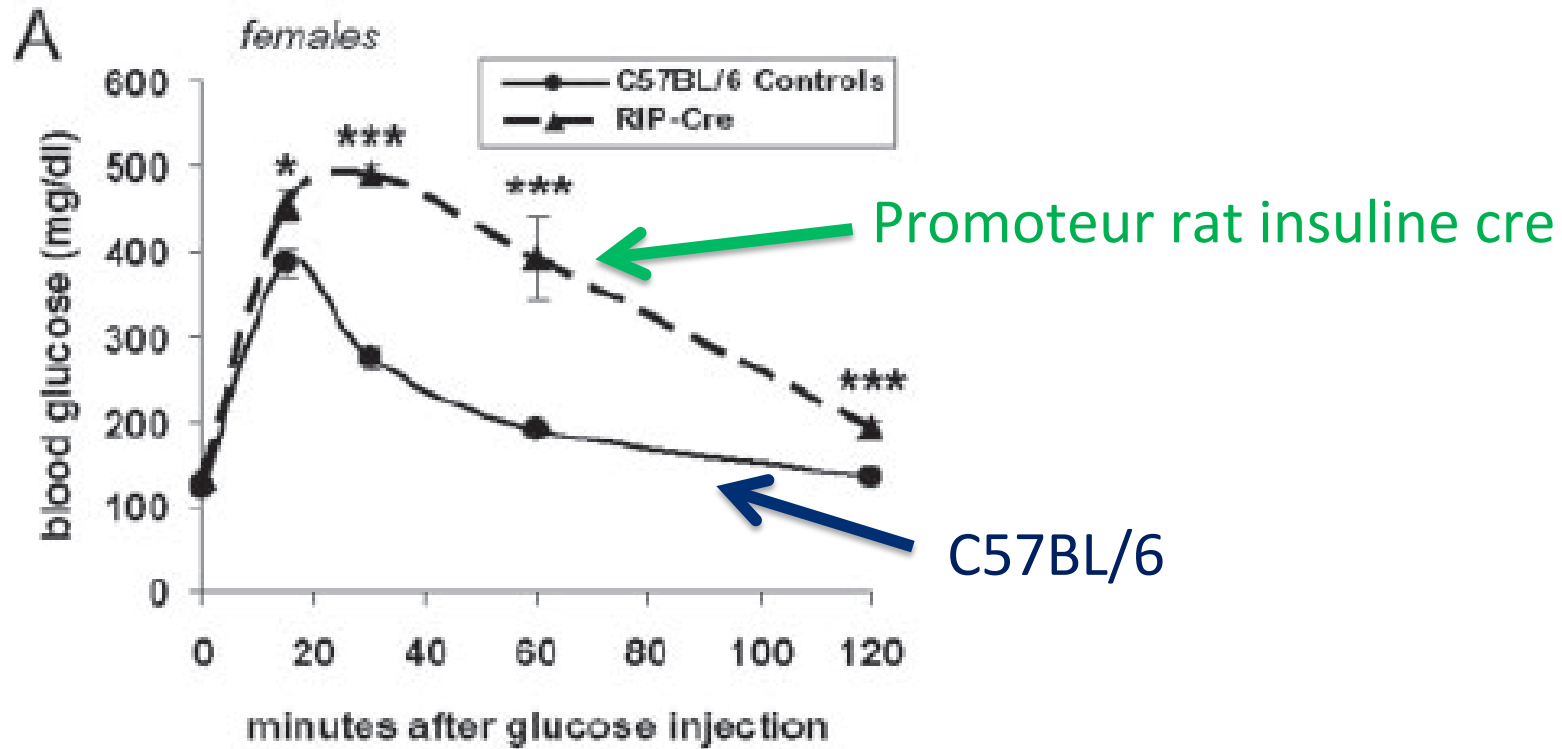
Protéine cre

Somatostatine

Glucagon

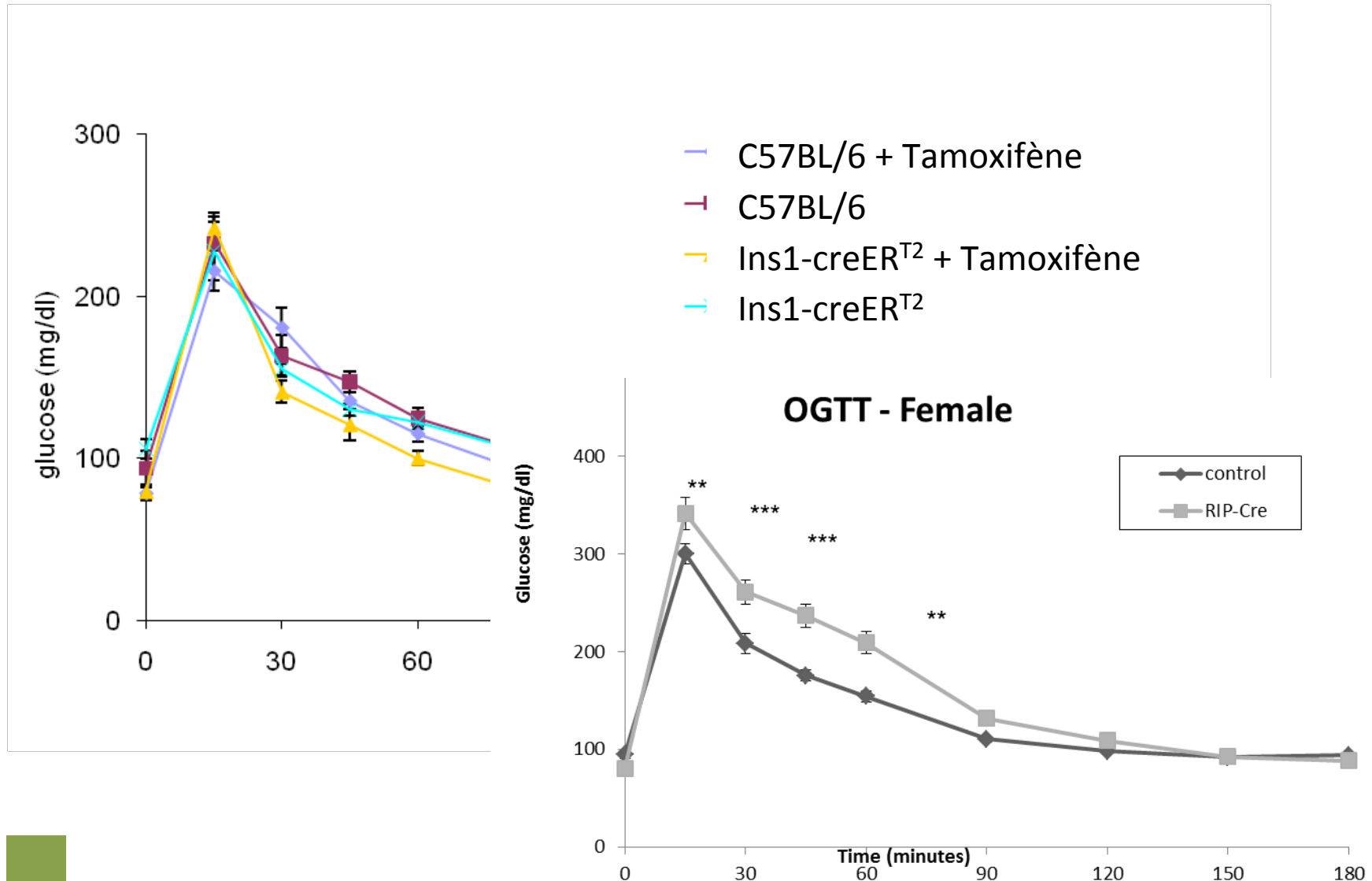


Caractérisation de la lignée Ins1-creER^{T2} / Validation phénotypique



Lee *et al.*, "RIP-Cre revisited, evidence for impairments of pancreatic beta-cell function." *J Biol Chem.* 2006

Caractérisation de la lignée Ins1-creER^{T2} / Validation phénotypique



phenomin

www.phenomin.fr/

Besoins d'outils génétiques

Confirmer l'implication
d'un gène dans une
maladie

Variation nombre de
copies

Inactivation/
Surexpression /
Humanisation

Modèle de maladie

SNP

Maladies
rares

Comprendre un
mécanisme
génétique

phenomin

Avec / sans diversité génétique

Target validation

Target switching

Derisking



Pourquoi travailler avec des souris génétiquement modifiées : les dernières avancées technologiques et les nouvelles ressources disponibles



Deux grands projets

PHENOMIN – l'infrastructure française nationale en phénogénomique de la souris

- De la création d'une souris génétiquement modifiée à son phénotypage

IMPC – décryptons le génome codant de la souris



Le projet de la décennie en biologie ?

IMPC - The International Mouse Phenotyping Consortium



Et si on inactivait un par un les gènes codant des protéines chez la souris

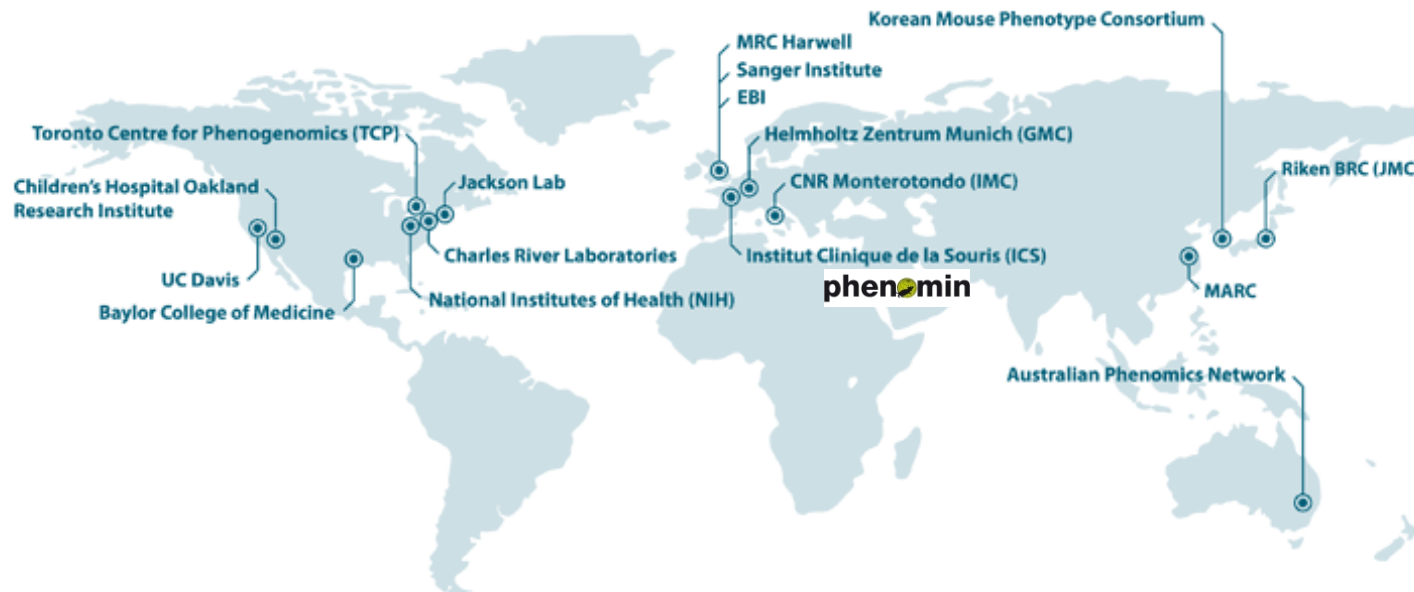
Et si en plus, on phénotypait toutes ces souris mutantes



Regroupant aujourd'hui 17 centres IMPC - The International Mouse Phenotyping Consortium

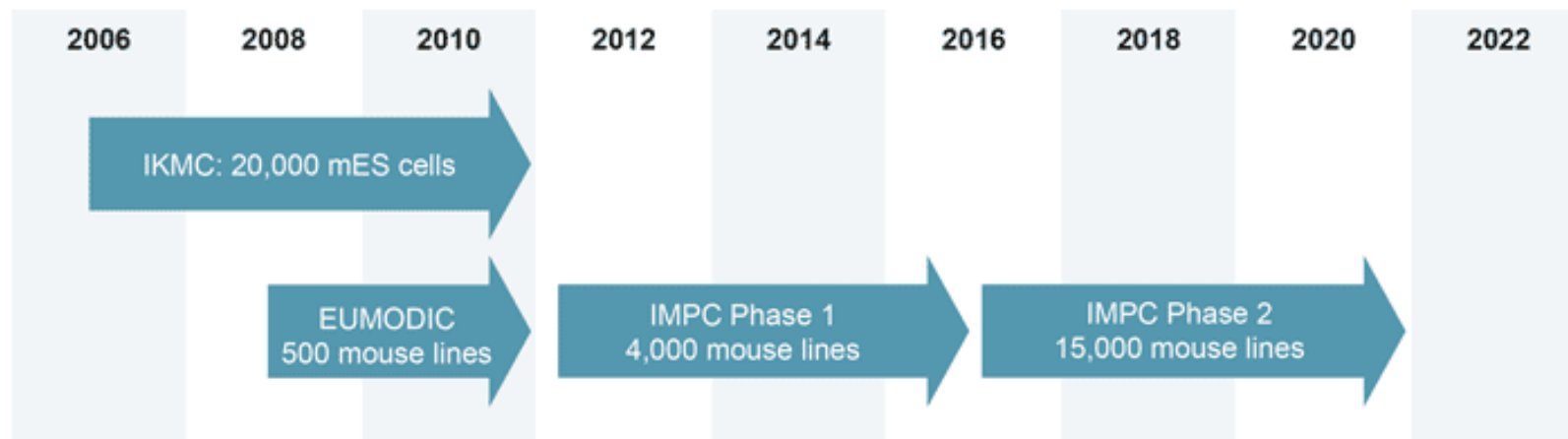
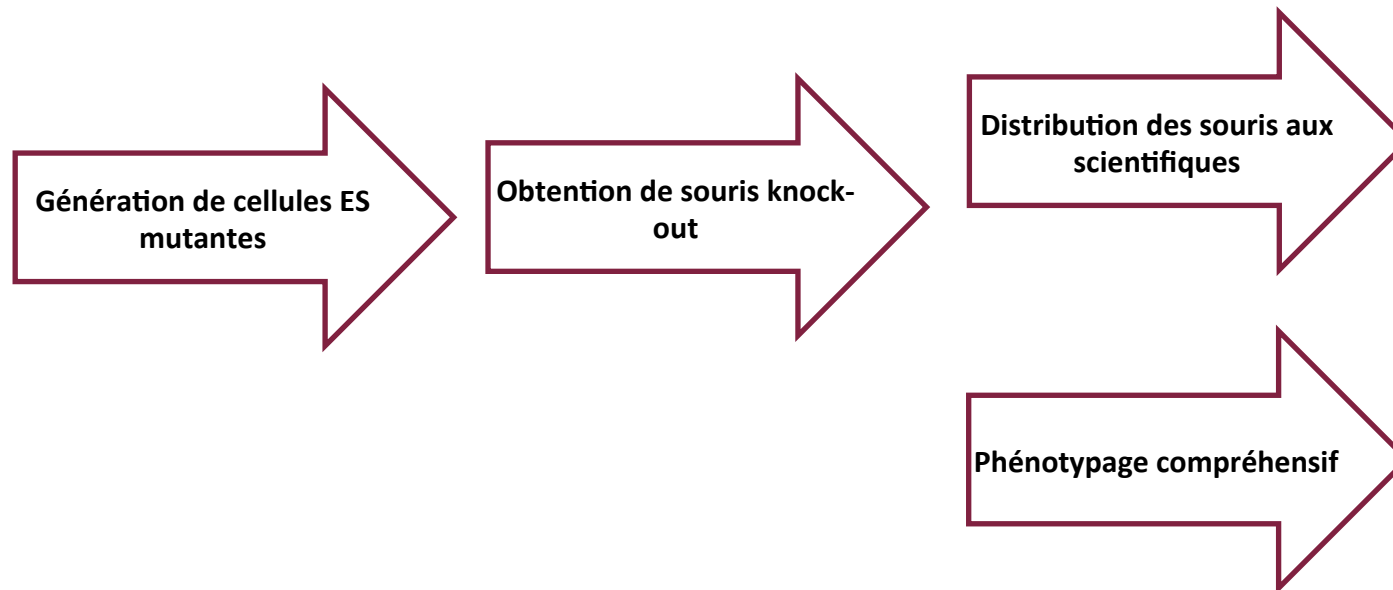


IMPC, a global and still expanding research initiative:

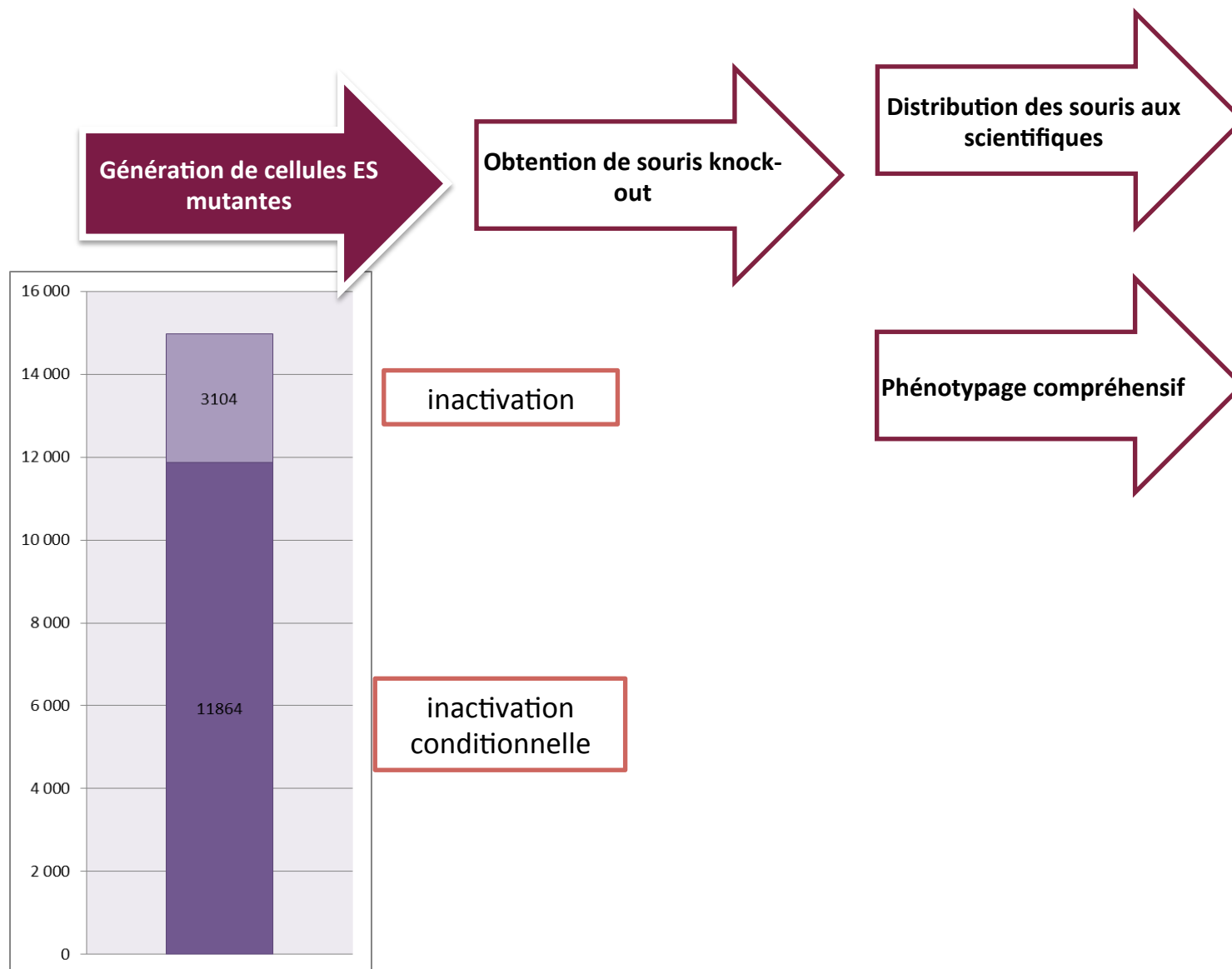


Un projet sur ≈15 ans

IMPC - The International Mouse Phenotyping Consortium

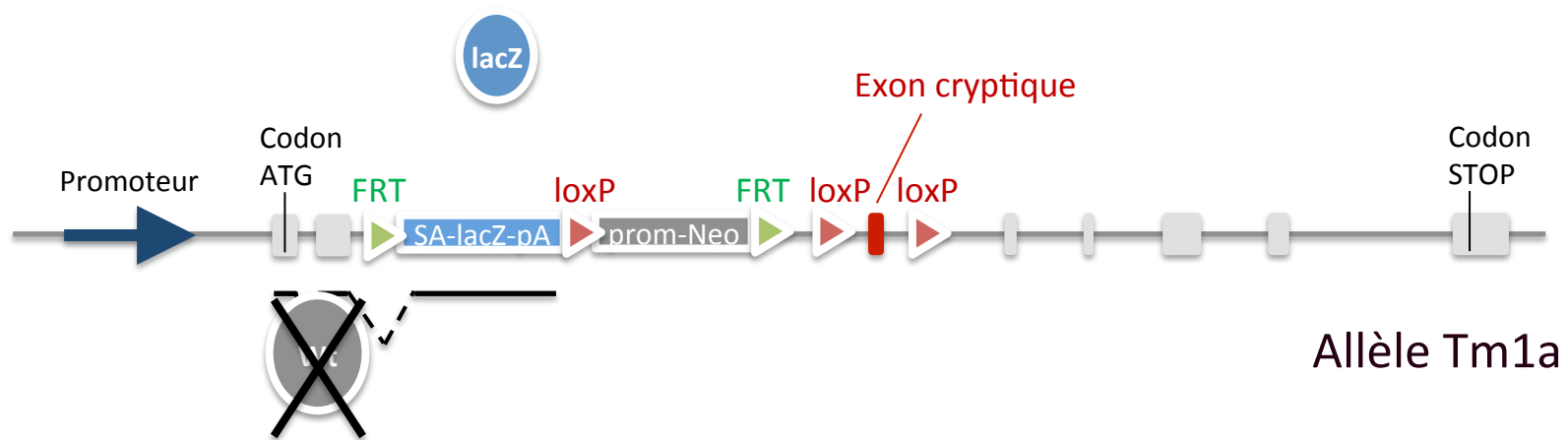


Le statut du projet IMPC - The International Mouse Phenotyping Consortium

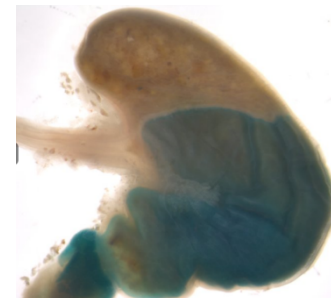
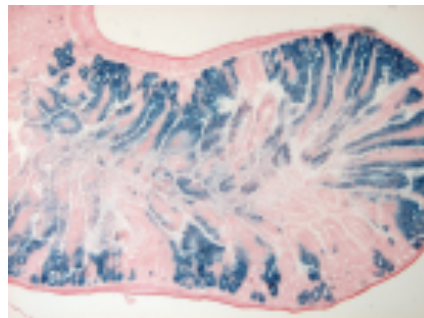


L'allèle

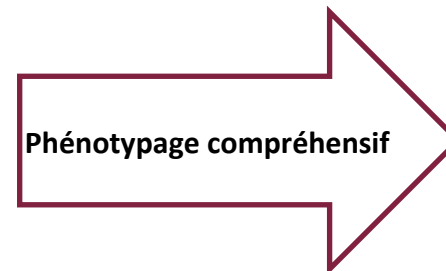
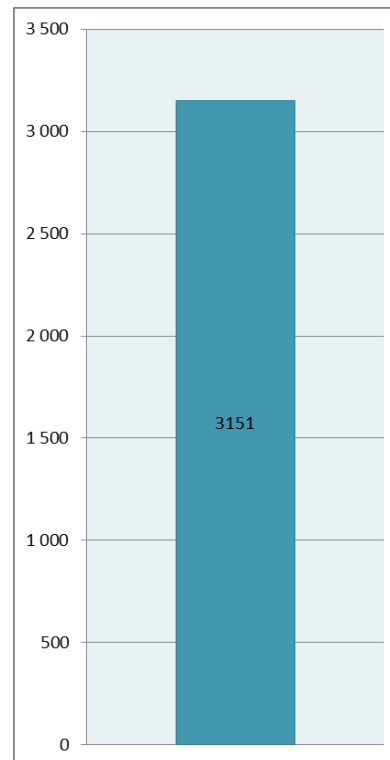
- Plusieurs approches, la principale est celle-ci dessous
- Cellules embryonnaires C57BL/6N



Evaluation des cellules qui expriment le gène cible

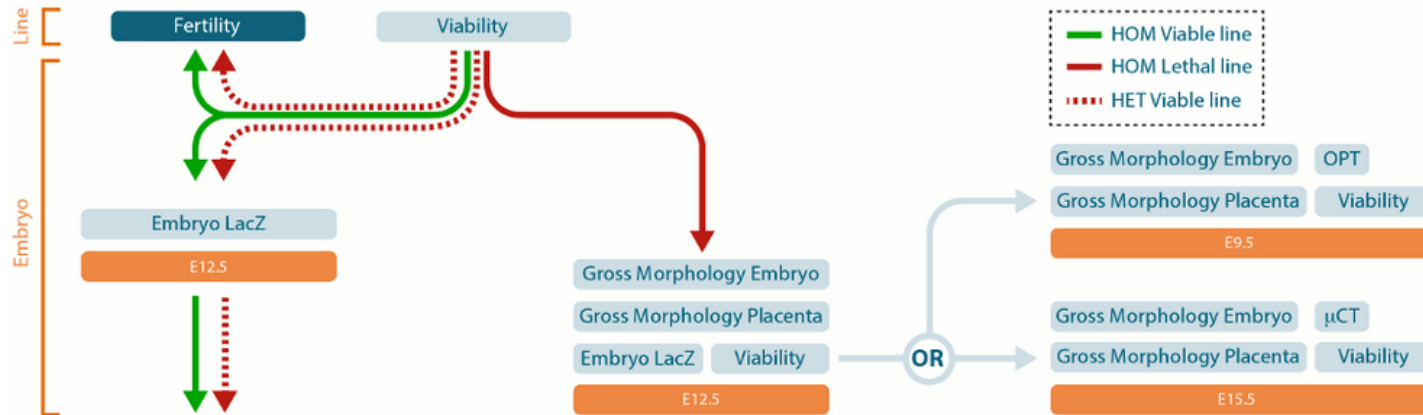


Le statut du projet IMPC - The International Mouse Phenotyping Consortium

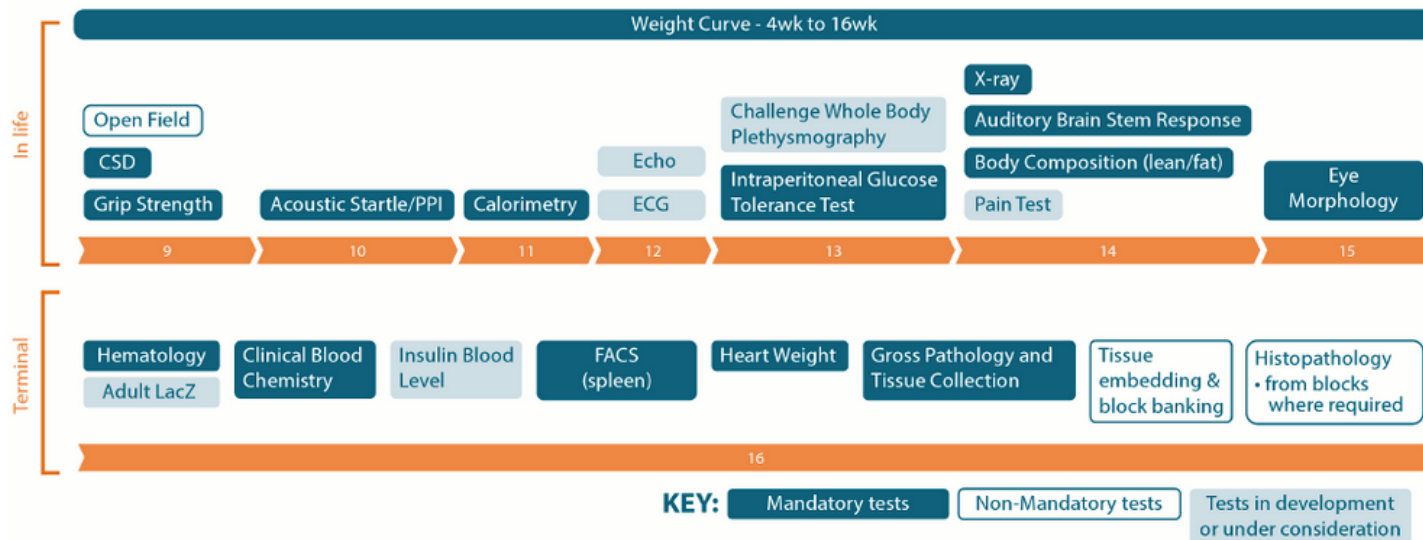


Un large panel de tests réalisés

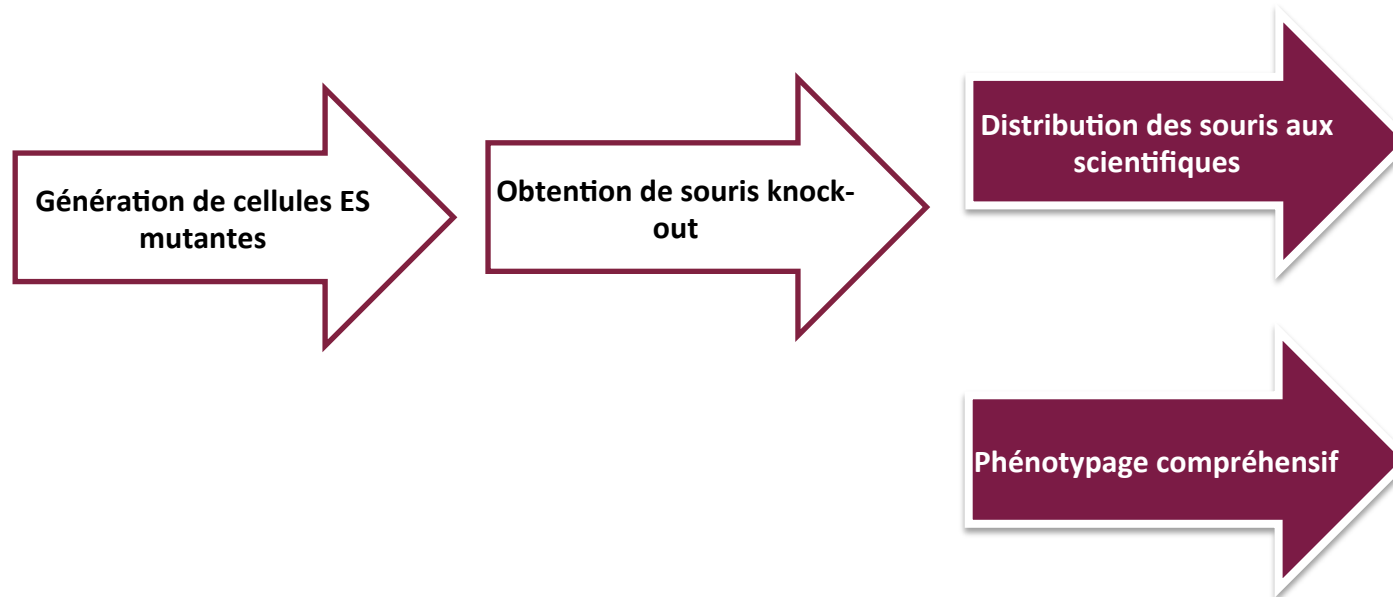
IMPC - The International Mouse Phenotyping Consortium



7M + 7F Mutant Adult Mice



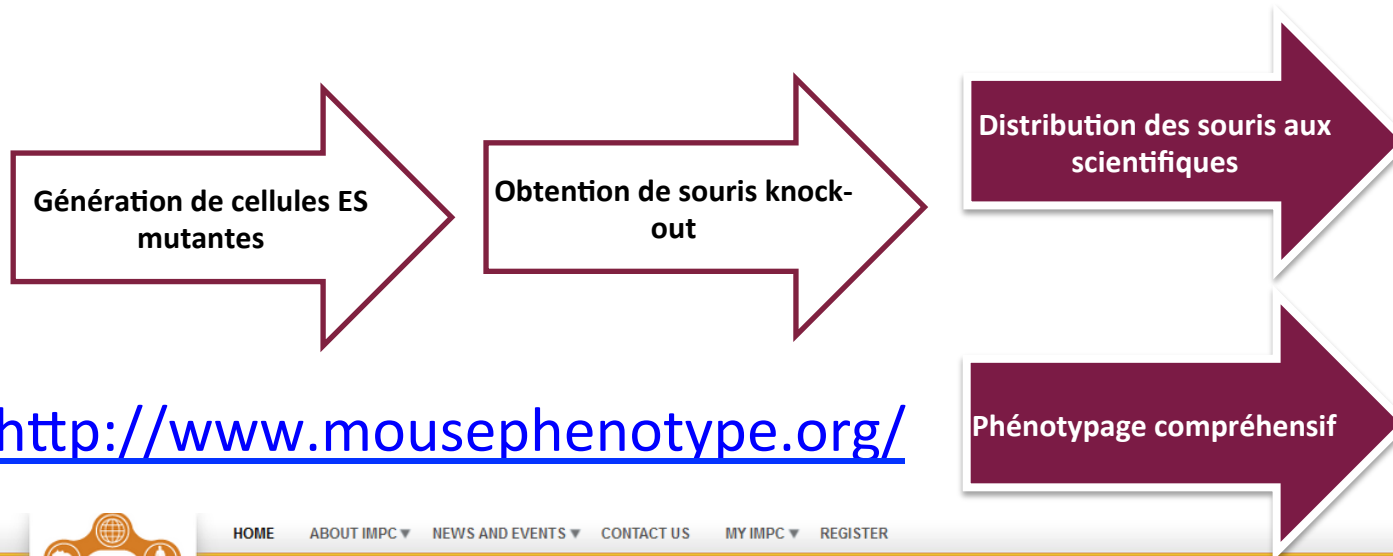
Le statut du projet IMPC - The International Mouse Phenotyping Consortium



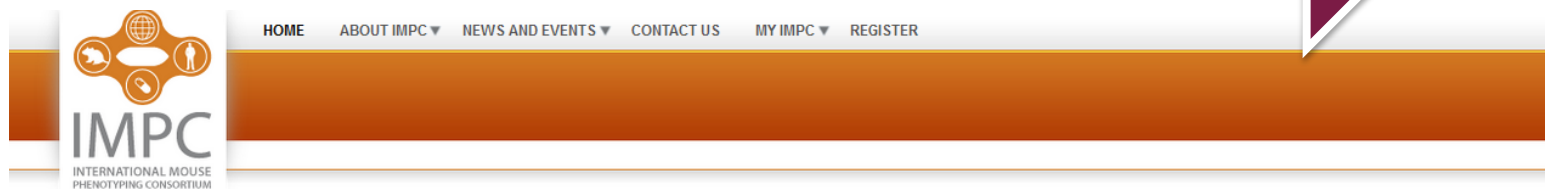
<http://www.mousephenotype.org/>



Le statut du projet IMPC - The International Mouse Phenotyping Consortium



<http://www.mousephenotype.org/>







Welcome to the International Mouse Phenotyping Consortium

SEARCH IMPC DATA

Enter your favorite gene in the search box and register your interest or type a standard protocol name and retrieve the parameters measured in IMPReSS.

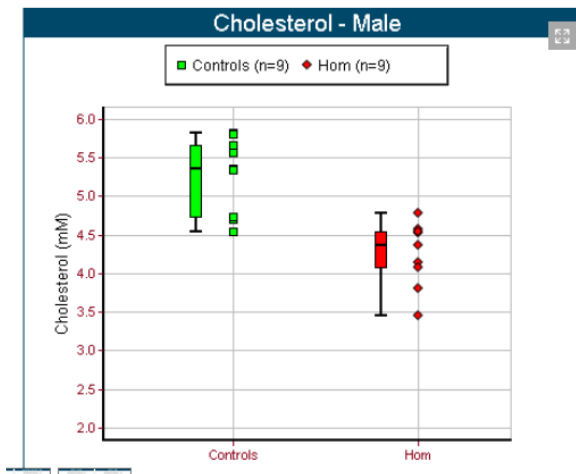
Search Functionality currently undergoing maintenance

-  **BROWSE GENE LIST**
Find out the latest status of your gene of interest
-  **REGISTER FOR GENE STATUS UPDATES**
Register to be kept up to date in the latest progress of your gene of interest
-  **PHENOTYPE PROTOCOLS (IMPRESS)**
View Phenotype Procedures and Parameters held in the IMPReSS Database
-  **TRACK MOUSE PRODUCTION (IMITS)**
Follow microinjection progress and mouse production



Le statut du projet

IMPC - The International Mouse Phenotyping Consortium



- Accès aux données
- Possibilité de récupérer les modèles mutants
- Méta-analyses (phénotype, maladies, OMIN)

Search results ...

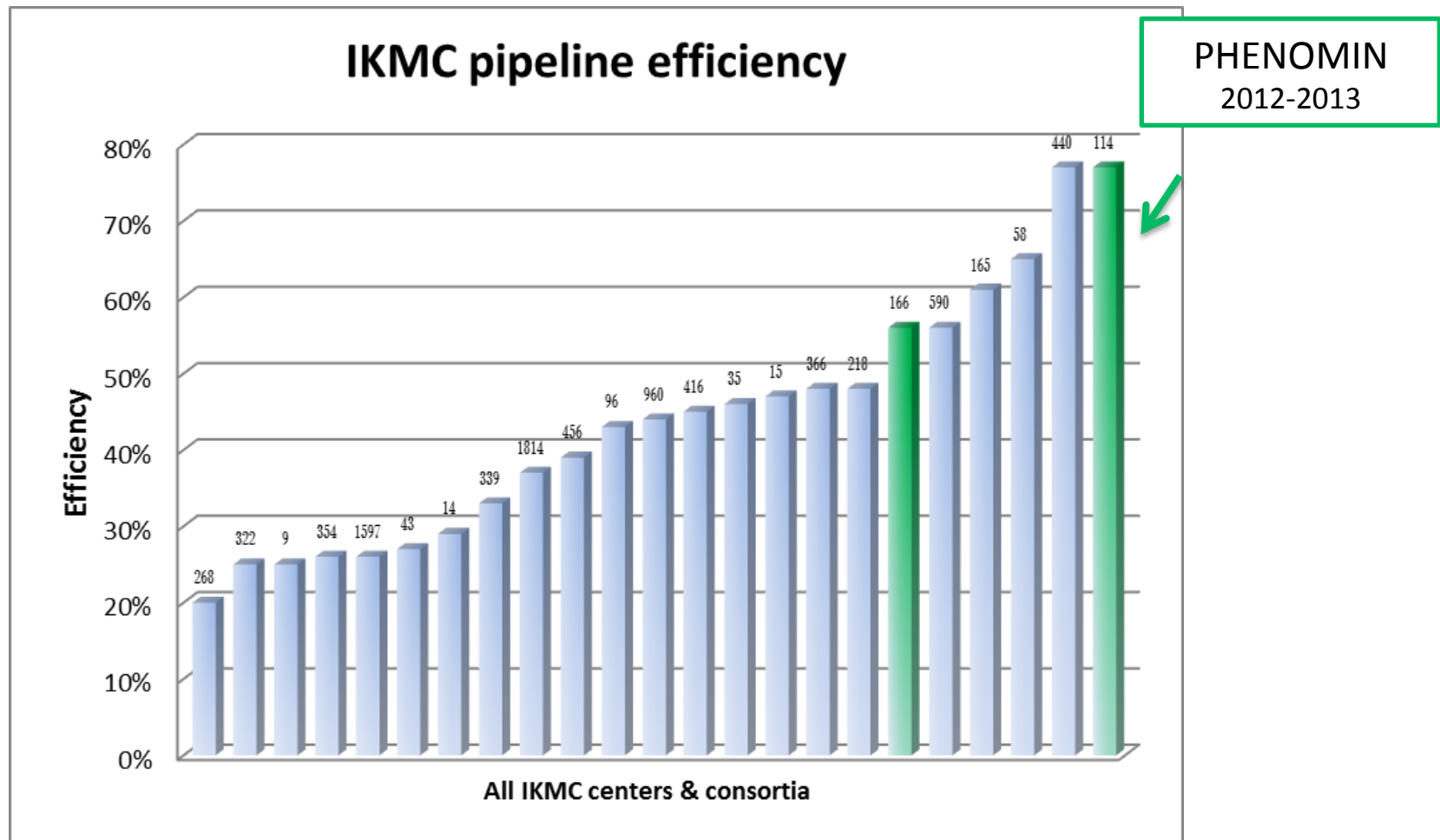
Genes	31698
Phenotypes	606
Diseases	6735
Anatomy	235
Procedures	3324
Images	91109

339 diseases for (IMPC_predicted:yes) AND (source:"OMIM") AND type:disease AND search keyword: ""

Export table

Disease name	Source	Curated genes in human	Curated genes in mouse (MGI)	Candidate genes by phenotype (MGP)	Candidate genes by phenotype (MGI)
TOOTH AGENESIS, SELECTIVE, 1; STHAG1	OMIM	Yes	Yes	Yes	Yes
POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE 3, AUTOSOMAL DOMINANT; PKD3	OMIM	-	-	Yes	Yes
POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE, INFANTILE SEVERE, WITH TUBEROUS SCLEROSIS;	OMIM	-	-	Yes	Yes
RETINOPATHY, PERICENTRAL PIGMENTARY, DOMINANT	OMIM	-	-	Yes	Yes

PHENOMIN (ICS) et son efficacité à obtenir des souris génétiquement modifiées



Le troisième appel à projet PHENOMIN est lancé

phenomin

www.phenomin.fr/

www.phenomin.fr/

Nominer le(s) gène(s) de vos rêves
≈ 100 modèles KO conditionnels sélectionnés

Les conditions d'éligibilités sont détaillées sur le site web



Merci de votre attention

phenomin

www.phenomin.fr/

Et pour tout ce que je n'ai pas pu aborder

Guillaume Pavlovic
pavlovic@igbmc.fr

ICS Institut Clinique de la Souris

IMPC phenomin

Departments Resources & Technologies Ethics and animal welfare Collaborations About ICS

PHENOMIN: Launch of 3rd Call

The French National Infrastructure PHENOMIN (ICS, TAAM, CIPHE) is pleased to announce the launch of the 3rd call to establish and characterize mouse models-conditional Knock-Out (cKO). Through its partnership with the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC), PHENOMIN has generated 150 new mouse models for the French scientific community. Over the next 3 years, PHENOMIN will produce more than 100 additional knock-out lines phenotyped according to the IMPC broad-based pipeline (<http://www.mousephenotype.org/impress>). The submission form and conditions for eligibility are available on the PHENOMIN website : http://www.phenomin.fr/calls/request_form/. Research projects must be submitted no later than **January 21st, 2014**.

IMPC phenomin

phenomin French National Infrastructure for Mouse Phenogenomics

Home Scientific Context Services Calls for proposals Collaborations Contact

PHENOMIN: French National Infrastructure for Mouse Phenogenomics

3rd Call PHENOMIN

IMPC

The French National Infrastructure PHENOMIN (ICS, TAAM, CIPHE) is pleased to announce the launch of the 3rd call to establish and characterize mouse models-conditional Knock-Out (cKO). [More information](#)

Modeling Human Diseases

www.ics-mci.fr/

www.phenomin.fr/



Celphedia



oseo

