



Cours de Biologie Moléculaire



F. GESBERT

franck.gesbert@universite-paris-saclay.fr

Mutations, dommages et réparation de l'ADN



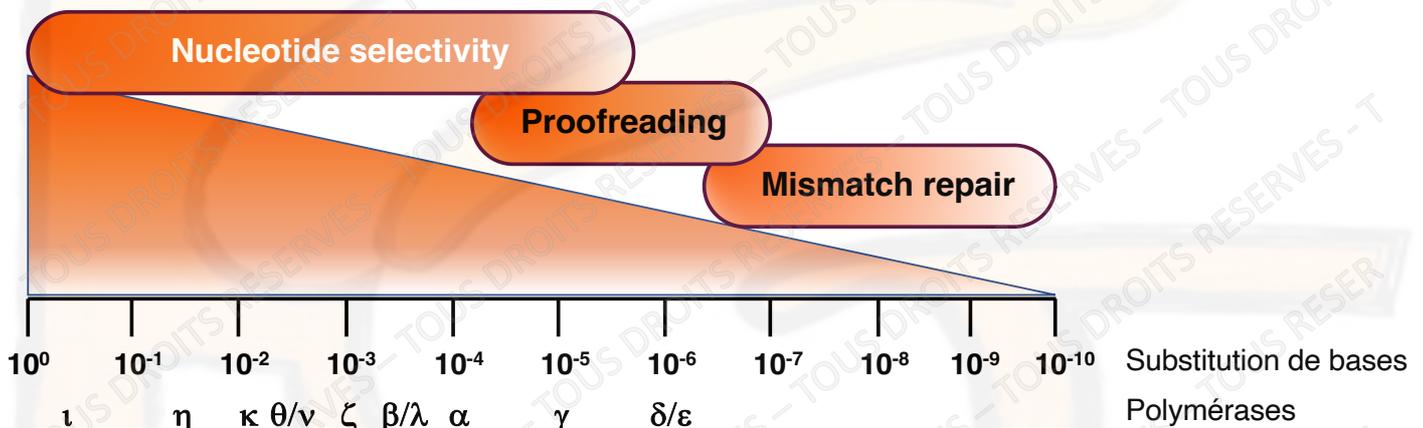


L'ADN est une molécule intrinsèquement stable

- ADN est une molécule double brin
- peu de chance de perdre 2 fois le message
- Présence de Thymine (T) et absence d'Uracile (U)
- désamination impossible sur T et immédiatement repérable sur C
- méthylation post réplivative
- distinction entre ADN parental et Néo-synthétisé
- activité correctrice des ADN pol
- ADN pol spécialisées dans la réparation



ADN polymérase et fidélité



Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Volume LXXIV. © 2009 Cold Spring Harbor Laboratory Press 978-087969870-6



Un génome "normal" :

- 1 séquence de référence
- de nombreuses variations dans la population

⇒ les polymorphismes :

- Séquences intra- ou inter-géniques considérées comme non pathologiques pour le sujet.
- peuvent correspondre à des traits phénotypiques simples (couleur des yeux, etc.), et peuvent être associés à des risques spécifiques.
- variabilité entre deux sujets compte pour environ 0,1% du génome humain, soit $3 \times 10^9 \text{ bp} \times 0,1\% \Rightarrow 3 \times 10^6 \text{ bp} !!!$



Ces variations dans la séquence d'ADN n'ont pas de conséquence pathologiques.

Les polymorphismes sont le résultat de "mutations".

Mutation : modification permanente et transmissible du support de l'information génétique

Mutation n'est pas synonyme de pathologie.

L'étude des caractères héréditaires ne peut être réalisée que dans un contexte de polymorphisme.



- **Mutation**: modification de l'information génétique contenue dans un génome. Mécanisme principal de l'évolution moléculaire.
- **Les mutations "constitutionnelles"** sont responsables d'anomalies héréditaires, transmissibles à la descendance. On parle aussi d'anomalie germinale.
- **Les mutations "somatiques"** n'affectent que des cellules somatiques et ne sont pas héréditaires.
- Apparition **aléatoire** mais fréquence d'apparition peut être augmentée par des facteurs environnementaux.
- Peuvent être **"silencieuses"** ou accompagnée de modifications phénotypiques plus ou moins marquées (notion de pénétrance).
- **Variation allélique** anormale pouvant aboutir au développement ou à l'évolution d'une maladie.



comprend les STR, les VNTR et des variations d'un seul nucléotide : SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

les SNP

- Fréquence > 1% dans la population
- Transmission héréditaire stable
- permet d'établir des haplotypes
- environ 1 tous les 1,2 à 1,9kb

Haplotype : Ensemble d'allèles de différents gènes, situés dans une même région d'un chromosome et généralement transmis ensembles à la descendance.



Single Nucleotide Polymorphisms

Allèle A

```
...AGCATAGCAGCAATCAGCGCAGCAGTCTCTCTTCGCAAGCA...  
...TCGTATCGTCGTTAGTCGCGTCGTCAGAGAGAAGCGTTCGT...
```

Allèle B

```
...AGCATAGCAGCAATCAGCAACAGCAGTCTCTCTTCGCAAGCA...  
...TCGTATCGTCGTTAGTCGTGTCGTCAGAGAGAAGCGTTCGT...
```



Variations du génome - Polymorphismes

Séquences répétées :

Réparties sur l'ensemble du génome mais en nombre très variable

Diverses origines (pseudo gènes , intégration d'élément dans l'évolution...)

- Microsatellites - STR (Short Tandem Repeat)
 - Séquences courtes répétées en tandem
 - 2 à 5 bp, les plus fréquentes sont XXX[CA]_nXXX
 - tous les 40kb - longueur variable - Fonction inconnue
 - Extension du nombre dans certaines maladies
 - e.g : syndrome de l'X fragile (OMIN 309550)
- Minisatellites – VNTR (Variable Number of Tandem Repeat)
 - Séquences répétées de 10 à plus de 100bp
 - fonction dans la régulation de gène
 - e.g ADN télomériques (5'-TTAGGG-3') sur 5 à 15kb
 - e.g séquence « Alu »
- Macrosatellites
 - répétitions de 100aine de Kb



LES MICROSATELLITES - STR

A+

Les microsatellites sont des marqueurs **multi-alléliques**

Allèle 1

...nnnnnnnnCACACACACACACACAnnnnnnnnnnn...
...nnnnnnnnCACACACACACACACAnnnnnnnnnnn...

Allèle 2

...nnnnnnnnCACACACACACACACACACACACAnnnnnnn...
...nnnnnnnnCACACACACACACACACACACACAnnnnnnn...

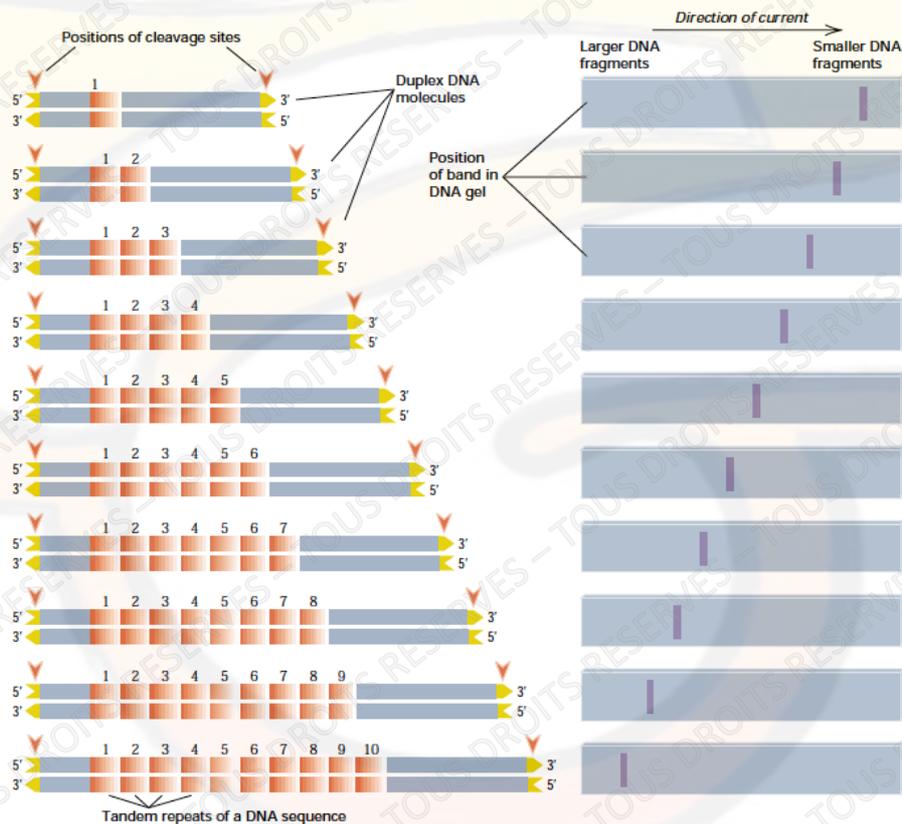
Allèle 3

...nnnnnnnnCACACACACACACACACACACAnnnnnnn...
...nnnnnnnnCACACACACACACACACACACAnnnnnnn...



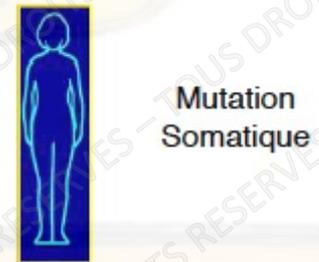
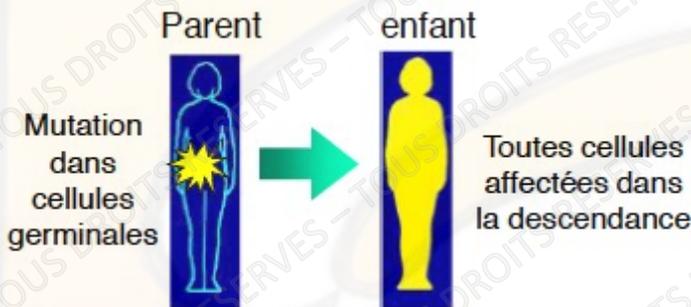
LES MICROSATELLITES - RFLP

A



Germine/Constitutionnelle

Somatique

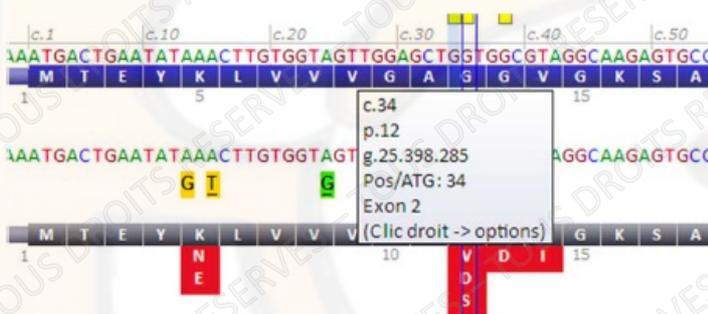


- présent dans les cellules germinales
- héréditaire
- Analyse possible à partir de tout tissu (Sang, Salive...)
- Législation précise pour effectuer ce type d'analyse
- Nécessité d'un consentement éclairé

- Survient dans les tissus non germinaux
- Non héréditaire
- Nécessite d'avoir accès au tissu atteint pour l'analyse
- Pas de législation spécifique en dehors de la législation relative à de la Biologie Médicale

Mutations - nomenclature

- g. indique la position sur le génome
- c. indique la position sur le transcrite
- p. indique la position dans la protéine



Niveau cDNA: NM_033360.3:c.34G>T
Niveau gDNA: Chr12(GRCh37):g.25398285C>A
Niveau protéique: p.Gly12Cys

NM_033360.3: Homo sapiens Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS), transcript variant a, mRNA.

Génome - chr12:25.398.389-25.398.178 (GRCh37) - 212 bps



Les mutations sont rencontrées sous diverses formes

MUTATION

TAILLE DE LA LESION

Taille ADN inchangée

- substitution
- inversion

ponctuelle= 1 nucléotide
renversement tête-bêche

Taille ADN changée

- délétion
- insertion
- duplication/ amplification
- expansion de triplets

perte de 1 nucléotide à 1 chromosome
gain de 1 nucléotide à...n nucléotide

X nbre de copies d'une séquence

(CAG, CGG, GAA...)



Chez l'Homme :

- Génome haploïde : $n=23$ (gamètes)
- Génome diploïde : $2n=46$ (cellules somatiques)

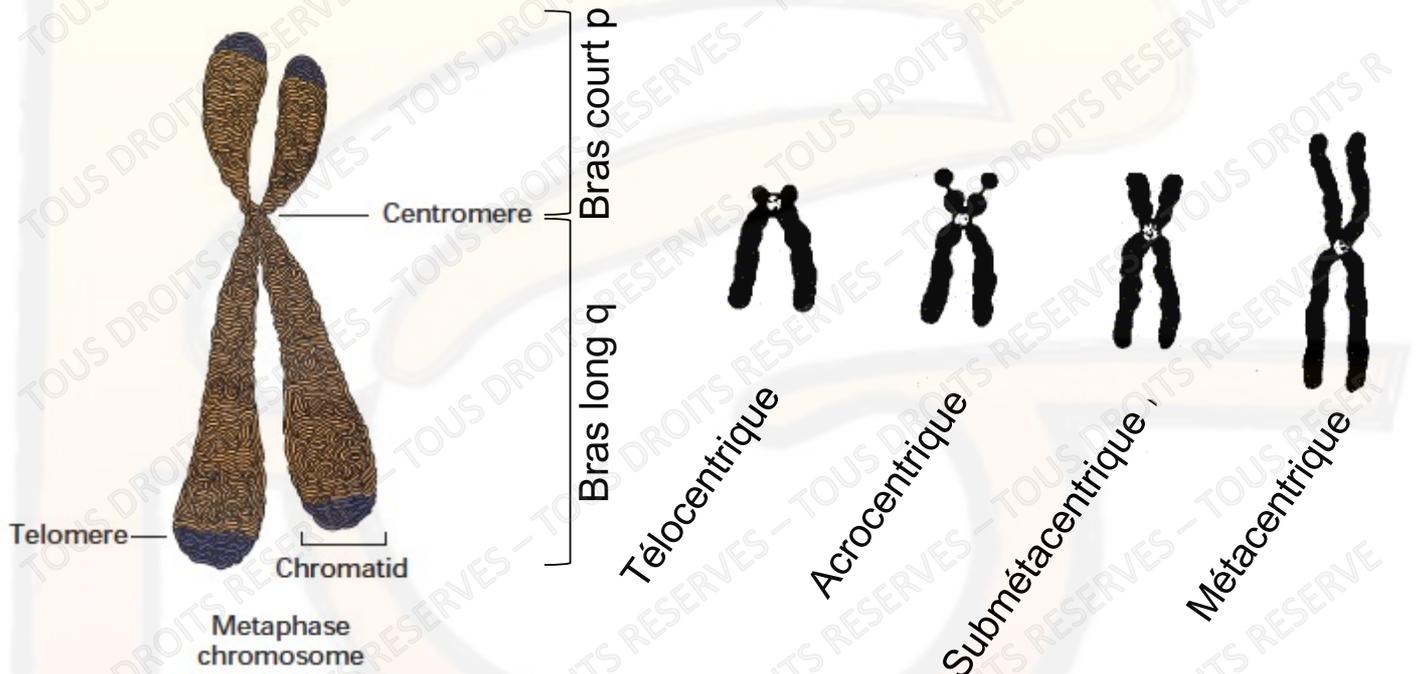
Aneuploïdie: $2n + 1; 2; 3...$

Gain ou perte d'un ou plusieurs chromosomes

- $2n + 1 = 47$ (Trisomie)
- $2n + 2 = 48$ (Tetrasomie)
- $2n - 1 = 45$ (monosomie)

Polyploïdie : En général gain d'un ou plusieurs lots de chromosomes

- $3n=69$ (Triploïdie) (Digynie ou Diandrie avec phénotypes différents selon l'origine parentale du lot de chromosome surnuméraire, rôle de l'empreinte génomique parentale)
- $4n=96$ (Tetraploïdie)



Molecular Cell Biology, Fifth Edition

Caryotype

I- A partir de cellules nucléées en division
(culture au moins 72h pour obtenir des plaques métaphasiques)

- Lymphocytes circulants
- Cellules amniotiques
- Cellules trophoblastiques
- fibroblastes...

II- Extraction

- Blocage à la Colchicine
- choc hypotonique

III- Coloration

- R Banding: RHG (Rbanding, Heat, Giemsa)
- G Banding: GTG (Giemsa, Trypsine, Giemsa)

IV- Observation et analyse



Existence d'anomalies de grandes tailles visibles à l'échelle du chromosome:

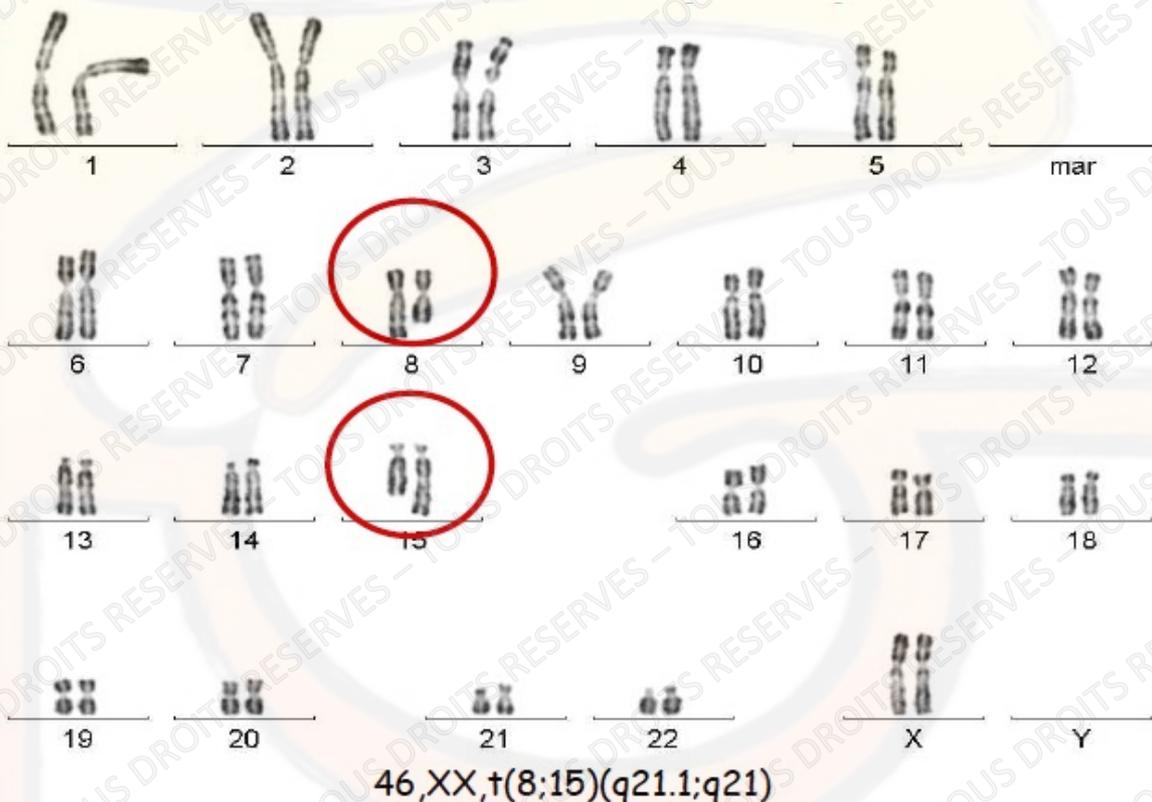
- Anomalies du nombre
- Anomalies de régions (>100Mb)
 - Délétions de gènes entiers
 - gain/amplification de gènes
 - Duplications
 - Inversions
 - Fusion de gènes
 - ...

Conséquences :

- Augmentation ou diminution d'expression
- Formation de protéines anormales

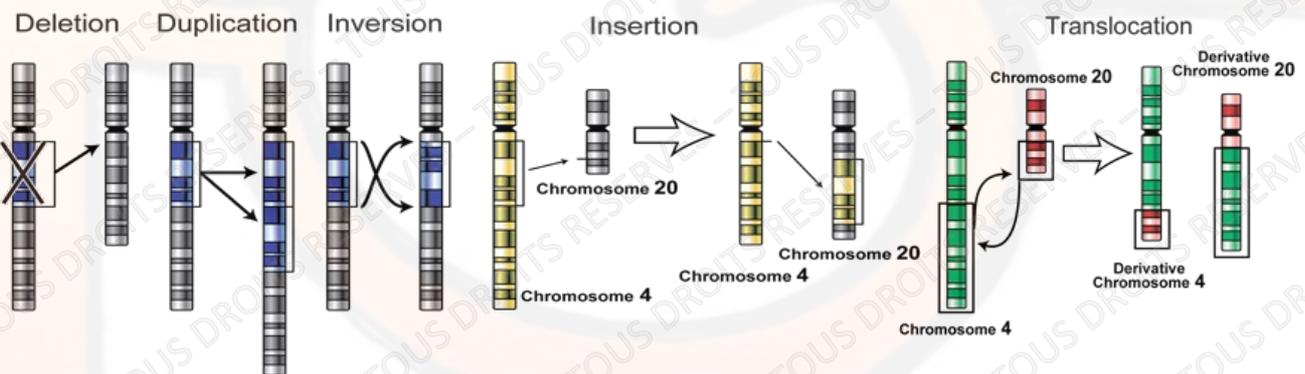
Anomalies étudiées en CYTOGENETIQUE

Structural		
Deletion	Terminal deletion 5p	 Cri du chat syndrome
	Interstitial deletion 11p	 Associated with Wilms tumour
Inversion	Pericentric inversion 9	 Normal phenotype
Duplication	Isochromosome X (fusion of long arms with loss of short arms)	 Infertility in females
Ring chromosome	Ring chromosome 18	 Mental retardation syndrome
Fragile site	Fragile X	 Mental retardation syndrome
Translocation	Reciprocal	 Balanced translocations cause no abnormality. Unbalanced translocations cause spontaneous abortions or syndromes of multiple physical and mental handicaps
	Robertsonian	



Les Macrolésions

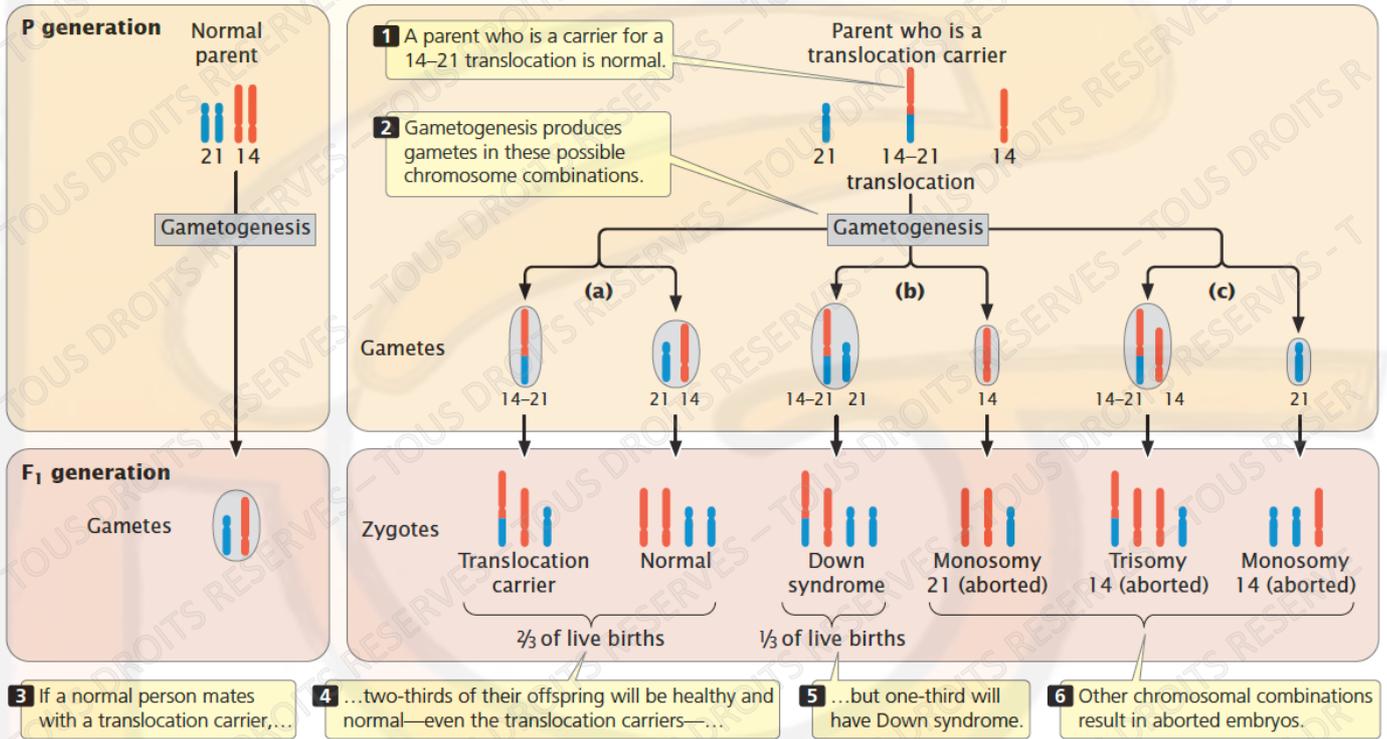
- Délétion
- Duplication
- Amplification
- Inversion
- Fusion ou translocation
- Insertion



Anomalies de structure

Anomalies "apparemment équilibrées" des autosomes (ex t rob):

- Pas de traduction phénotypique, mais risque variable pour la descendance
- Parfois traduction clinique
 - effet de dosage génique (pour des gènes dosage sensitifs)
 - cassure d'un gène fonctionnel
 - effet de position
 - empreinte parentale



7.20 Translocation carriers are at increased risk for producing children with Down syndrome.

Mutations, dommages et réparation de l'ADN

Quelques points importants

Les mutations concernent des modifications génétiques.

Ces modifications sont **nécessaires à la survie de toute espèce**, elles sont à l'origine de **variations** et d'**adaptation**.

Ces modifications doivent être **corrigées au niveau de l'individu** qui nécessite une certaine **stabilité génétique**.

Les cellules disposent de mécanismes de **détection** et de **réparation** des modifications ou des lésions.

Processus **particulier au seul ADN**. L'ADN est la seule macro-molécule qui puisse être réparé.

De nombreuses pathologies ont pour origine un défaut des systèmes de réparation.



La composition même de l'ADN, charges, groupement nucléophile, en fait une molécule "sensible" à son environnement.

- **Génotoxicité** : Propriété d'un agent, d'un stress, à endommager le matériel génétique des cellules.
- Ces agents ou stress peuvent être:
 - d'origine endogène, conséquence du métabolisme cellulaire.
 - d'origine exogène, agents chimiques ou physiques.
- Un agent génotoxique est un agent qui va altérer la structure, la composition ou encore les processus de réparation de l'ADN.
- Ces agents génotoxiques vont donc être des mutagènes et/ou des cancérogènes.



MUTAGENES BIOLOGIQUES

Activité Biologique
Virus, Transposons

ADN pol, ROS
insertion-délétion (Indel)

MUTAGENES PHYSIQUES

Chaleur
Rayonnement UV
Radiations ionisantes

désamination, dépurination
dimères de thymine
cassures simple et double brin

MUTAGENES CHIMIQUES

Analogues de bases
Modificateurs de bases
Alkylants
Intercalants
Agents de Pontage

erreur réplication
mésappariement
mésappariement
erreur réplication
liaison covalentes inter-brin



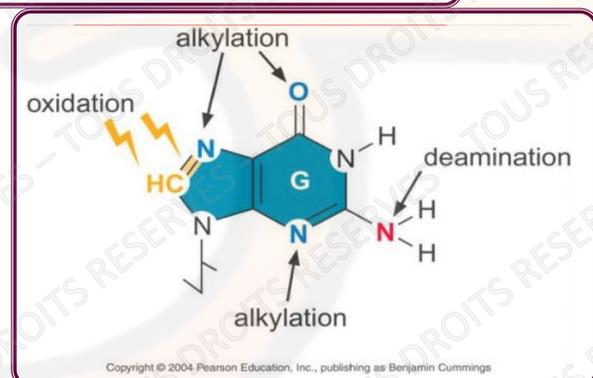
Génotoxiques chimiques :

- endogènes : induits ou non
- exogènes :
 - Nitrosamines
 - agents alkylants
 - dérivés aromatiques
 - amines hétérocycliques
 - hydrocarbures aromatiques polycycliques
 - mycotoxines
 - benzènes, chlorure de vinyles...

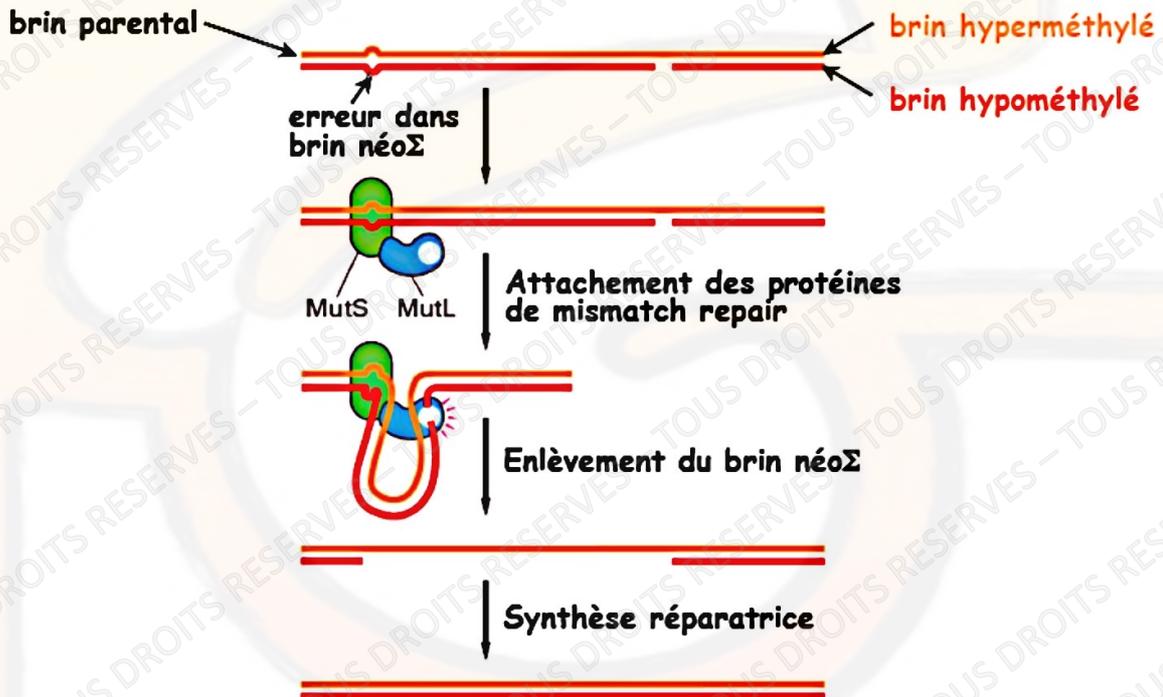


Il existe principalement 3 sources de dommage à l'ADN :

- 1- Dommages spontanés par hydrolyse ou déamination
- 2- Dommages par oxydation, ou alkylation ou radiations
- 3- Mutations causées par des analogues de bases ou des intercalants



Erreur de l'ADN polymérase (spontanée ou induite) --> Mésappariement



Mutations – causes environnementales

MUTAGENES BIOLOGIQUES

Activité Biologique
Virus, Transposons

ADN pol, ROS
insertion-délétion (Indel)

MUTAGENES PHYSIQUES

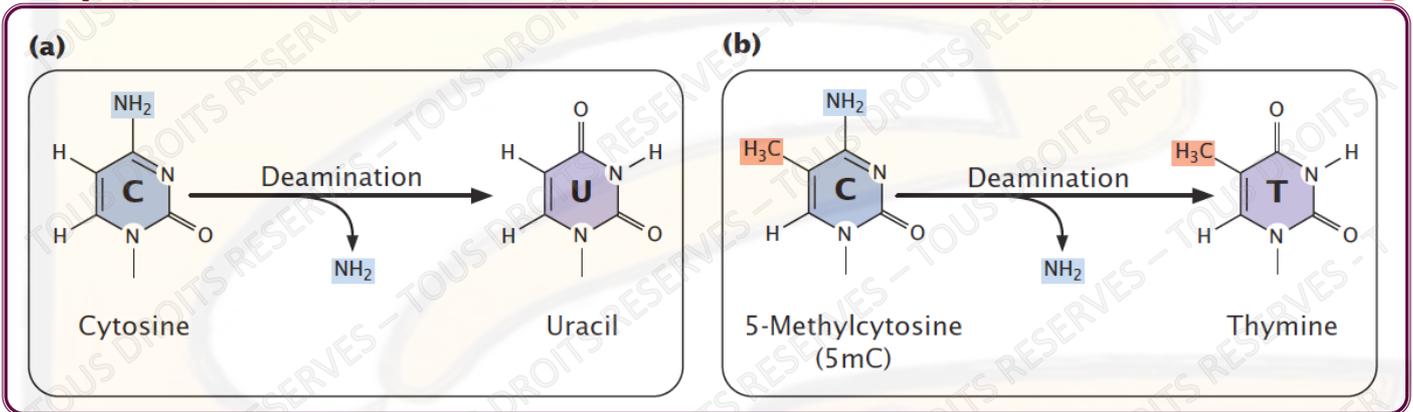
Chaleur
Rayonnement UV
Radiations ionisantes

désamination, dépurination
dimères de thymine
cassures simple et double brin

MUTAGENES CHIMIQUES

Analogues de bases
Modificateurs de bases
Alkylants
Intercalants
Agents de Pontage

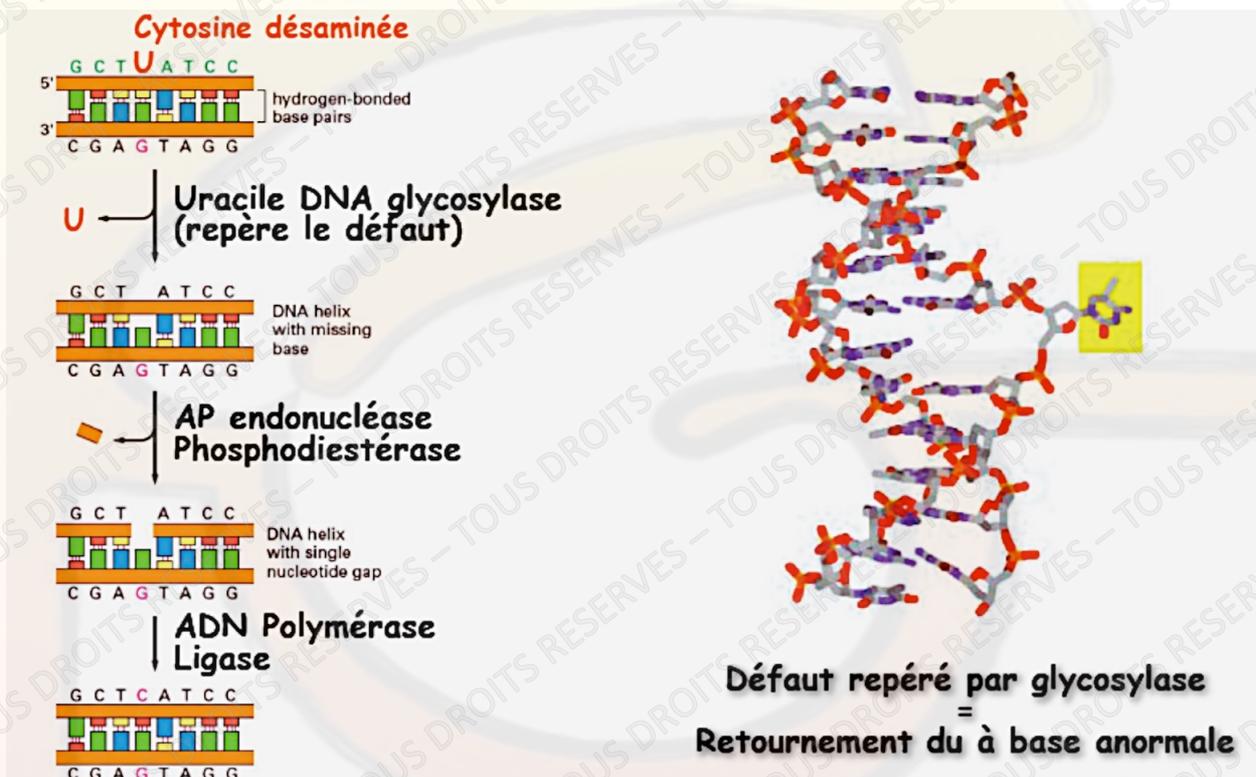
erreur réplication
mésappariement
mésappariement
erreur réplication
liaison covalentes inter-brin



Remarques :

- 1- La déamination d'une Cytosine produit un Uracile, facilement repérable et donc réparable.
- 2- La déamination d'une méthylcytosine produit une Thymine, non repérable et conduit à une transition C > T.
- 3- les sites 5mC sont des points chauds de mutation chez l'homme.

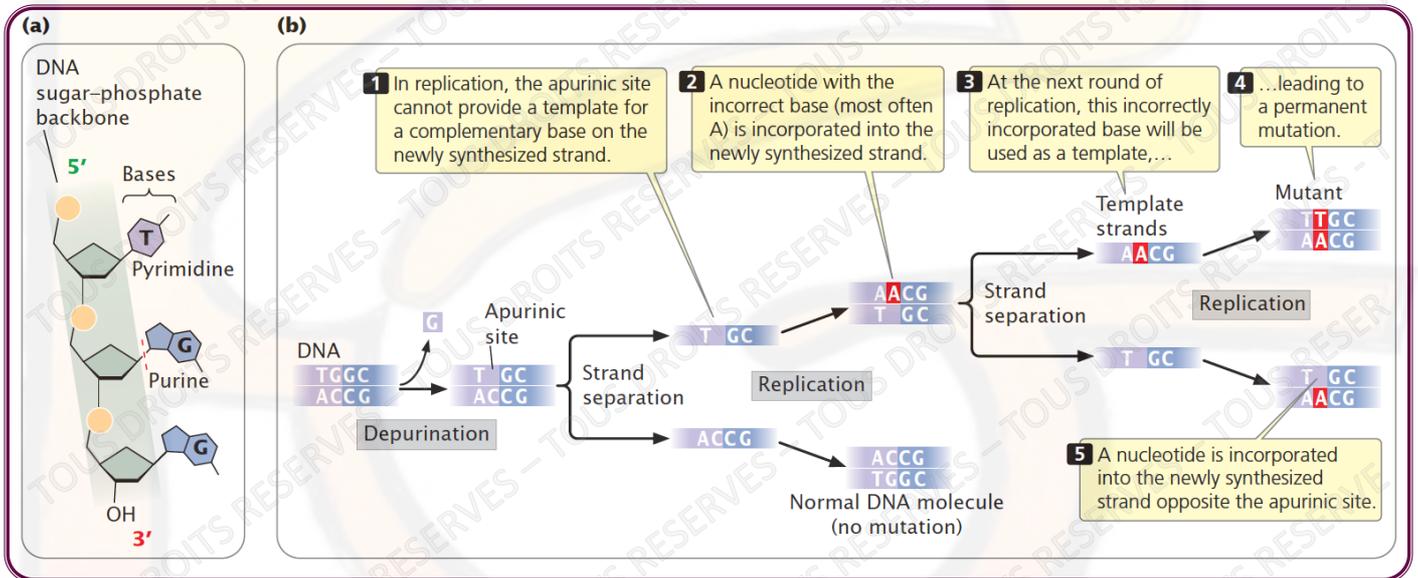
Systèmes de réparation de l'ADN - Base Excision Repair (BER)



Dépurination

A

Mutation spontanée très courante. Environ 10000 par jour par cellule humaine en culture.



GENETICS ESSENTIALS
Concepts and Connections

Benjamin A. Pierce
Sunderland University

université PARIS-SACLAY FACULTÉ DE PHARMACIE

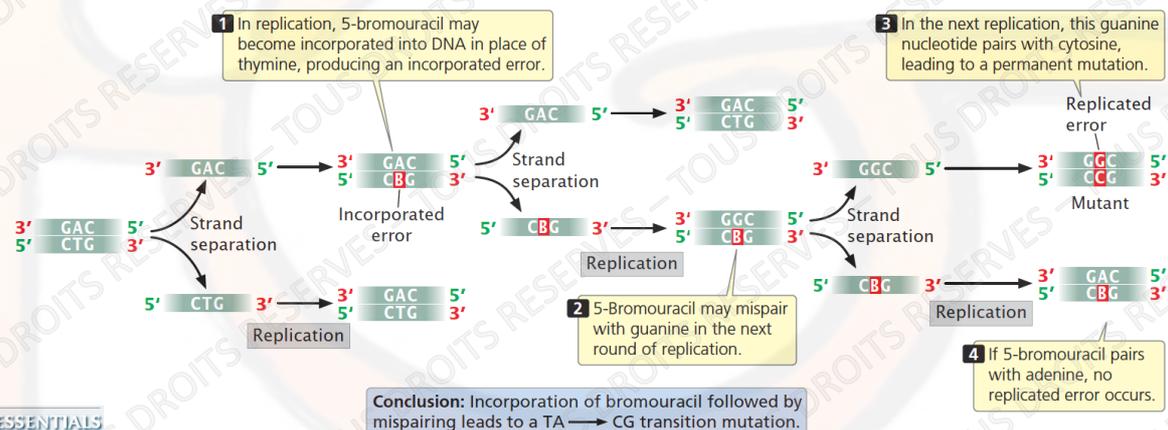
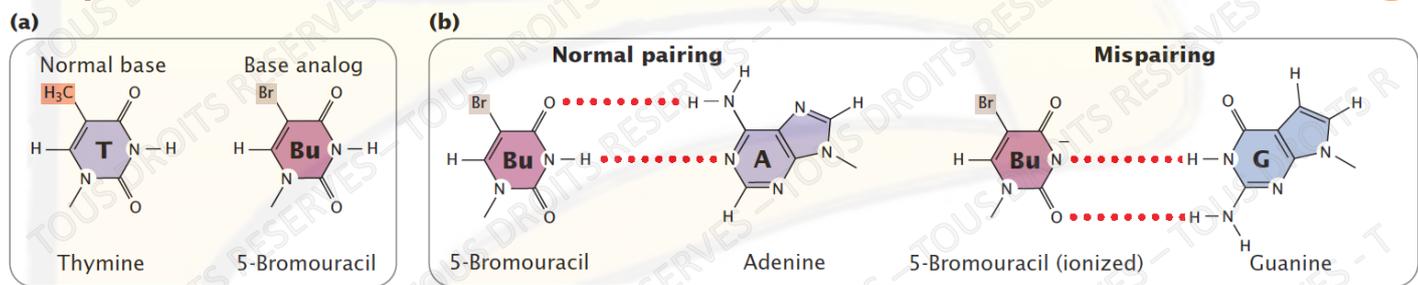
Franck Gesbert

33

Cours 4 - UE4 – Intégrité

Incorporation d'analogues de bases

A



GENETICS ESSENTIALS
Concepts and Connections

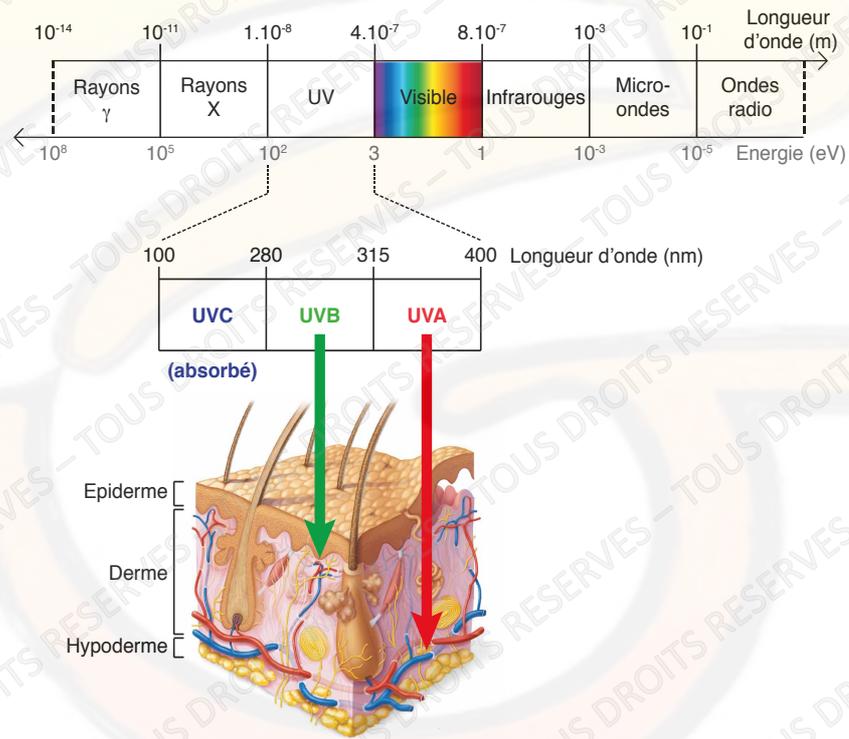
Benjamin A. Pierce
Sunderland University

université PARIS-SACLAY FACULTÉ DE PHARMACIE

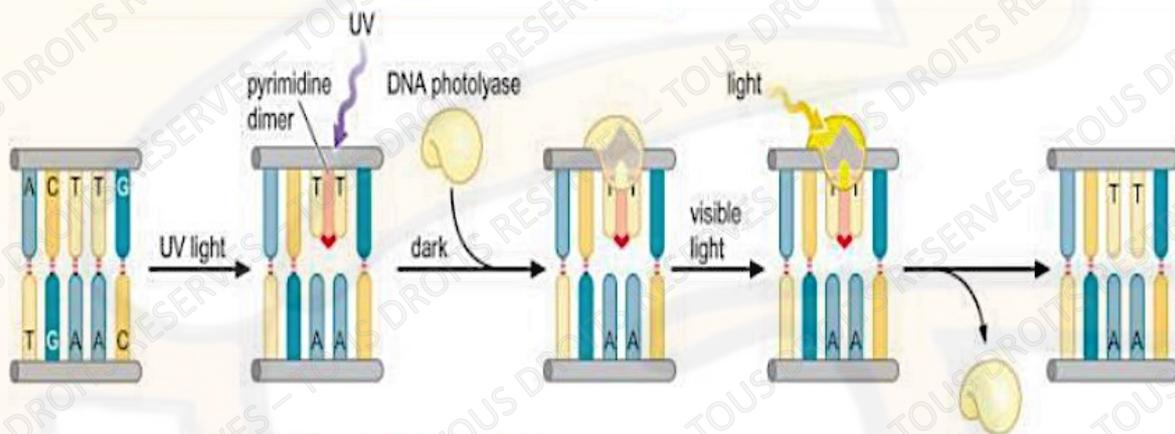
Franck Gesbert

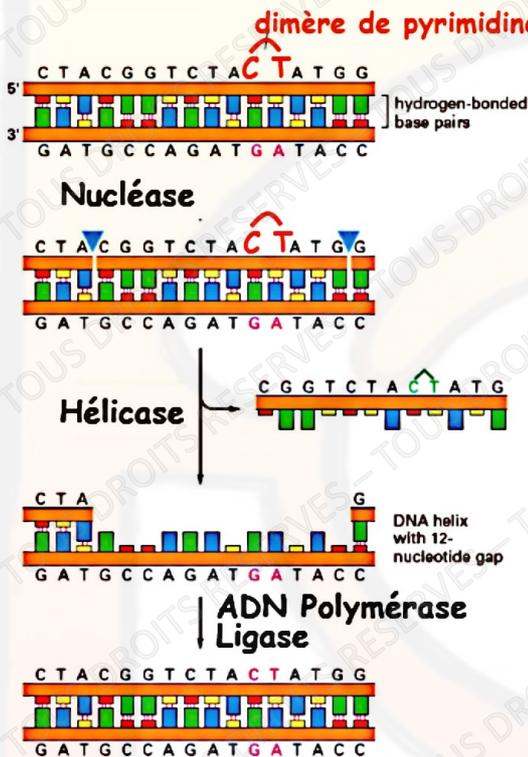
34

Cours 4 - UE4 – Intégrité



From J. Bertrand, Thèse de doctorat



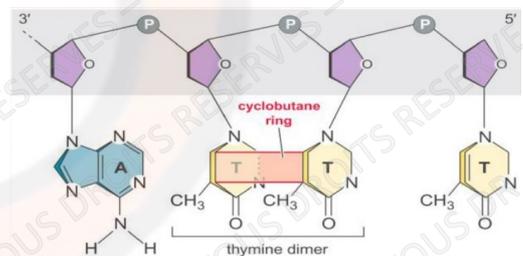


Molécules impliquées

- Procarvotés: UVR A, B et C
- Eucaryotes: 15 protéines

Taille du gap généré

- Procarvotés: 12 MERS
- Eucaryotes: ≈ 20 mers



Mutations – causes environnementales

MUTAGENES BIOLOGIQUES

Activité Biologique
 Virus, Transposons

ADN pol, ROS
 insertion-délétion (Indel)

MUTAGENES PHYSIQUES

Chaleur
 Rayonnement UV
 Radiations ionisantes

désamination, dépurination
 dimères de thymine
 cassures simple et double brin

MUTAGENES CHIMIQUES

Analogues de bases
 Modificateurs de bases
 Alkylants
 Intercalants
 Agents de Pontage

erreur réplication
 mésappariement
 mésappariement
 erreur réplication
 liaison covalentes inter-brin

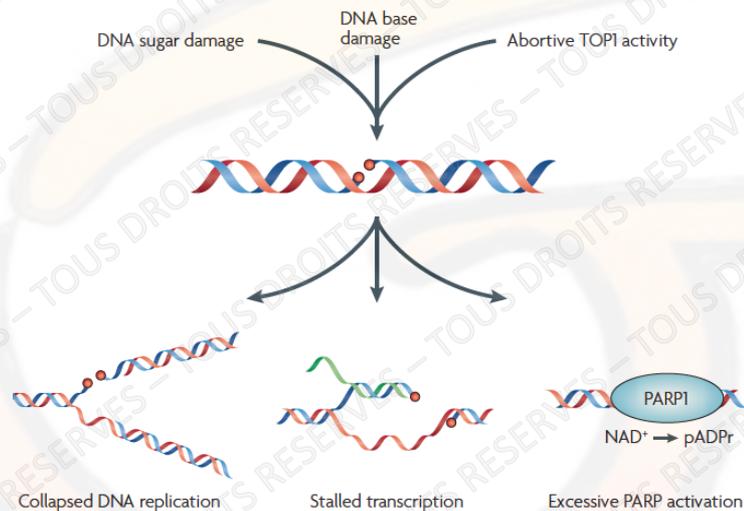
	Original base	Mutagen	Modified base	Pairing partner	Type of mutation
(a)	<p>Guanine</p>	Ethyl methanesulfonate EMS Alkylation	<p>O⁶-Ethylguanine</p>	<p>Thymine</p>	CG → TA
(b)	<p>Cytosine</p>	Nitrous acid (HNO ₂) Deamination	<p>Uracil</p>	<p>Adenine</p>	CG → TA
(c)	<p>Cytosine</p>	Hydroxylamine (NH ₂ OH) Hydroxylation	<p>Hydroxylamino-cytosine</p>	<p>Adenine</p>	CG → TA

GENETICS ESSENTIALS
Concepts and Connections

Benjamin A. Pierce
© 2004 W. H. Freeman & Co.

Cassures simple brin

Dommage de l'ADN le plus courant
Plusieurs dizaines de milliers par cellule et par jour
Causes multiples



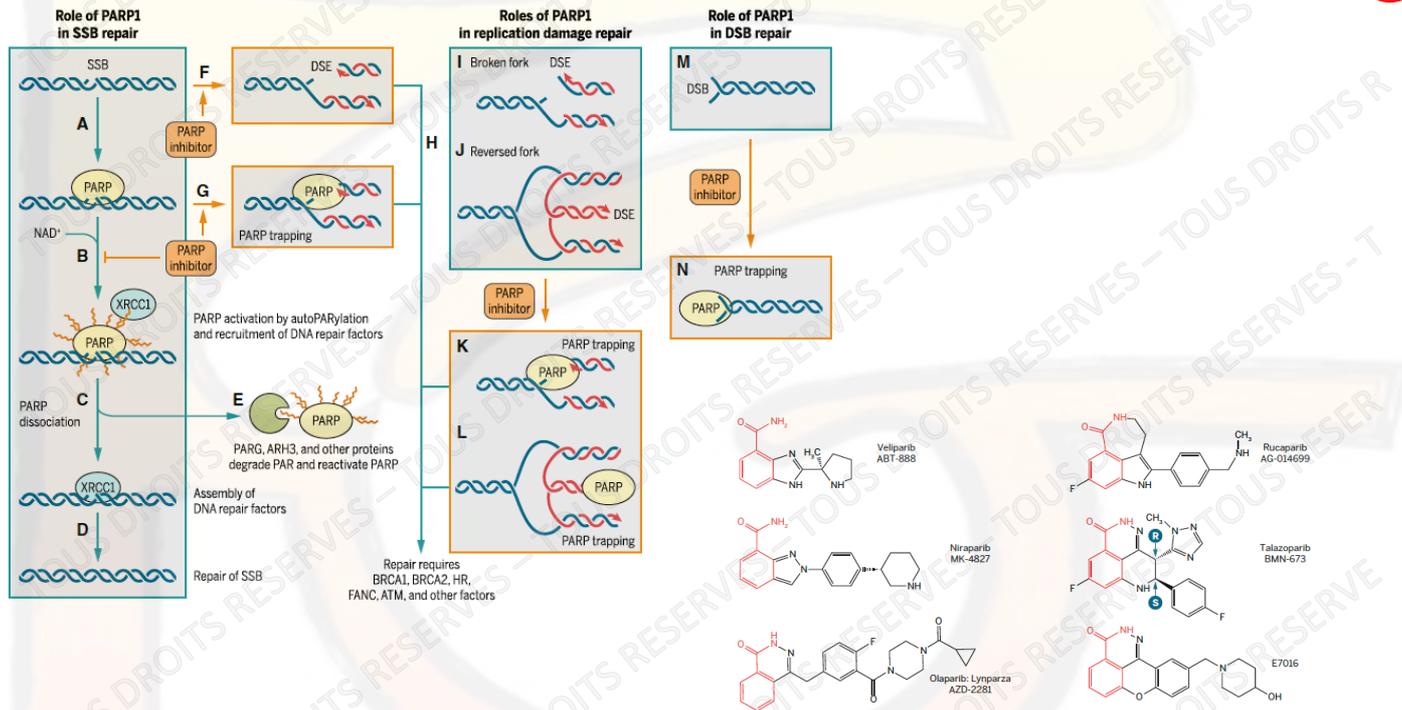
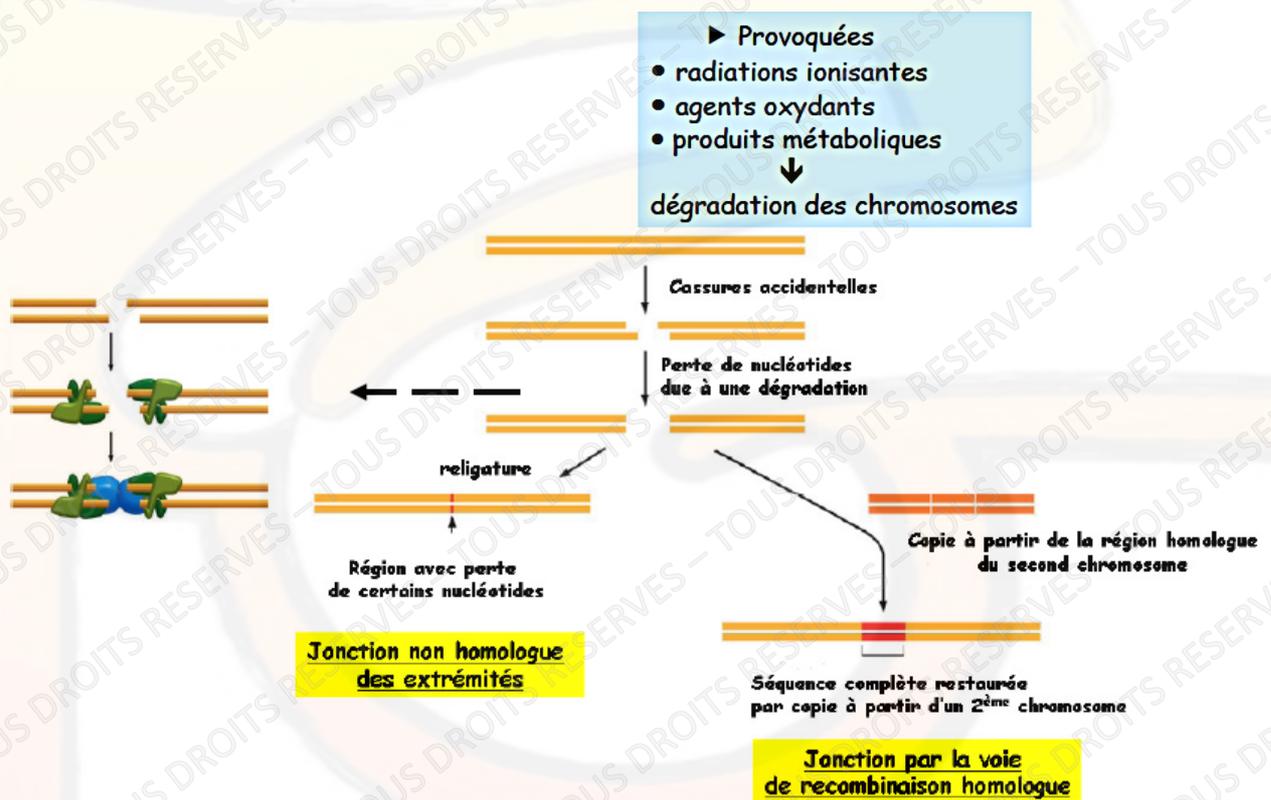


Fig. 2. Structures of the clinical PARP inhibitors. The nicotinamide moiety common to PARP inhibitors is shown in red. The blue arrows indicate the racemic centers for talazoparib, explaining the selectivity of the active enantiomer.

Systèmes de réparation de l'ADN - Réparation de cassures double brin



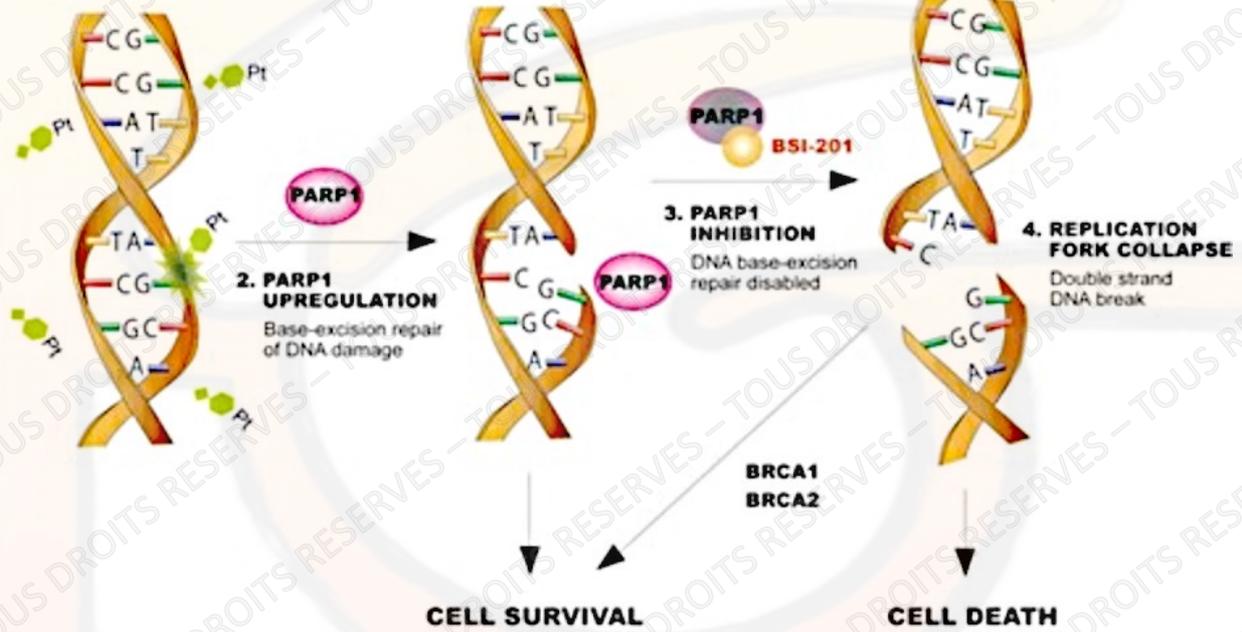
Maladie	Symptômes	Défaut moléculaire	Gènes impliqués
Xeroderma pigmentosum	Photosensibilité, cancer de la peau	Réparation par excision Synthèse translésionnelle	XPA,B,C,D,E,F,G XPV (Pol h)
Trichothiodystrophie	Retard physique et mental	Réparation par excision Transcription	XPD, XPB (dans TFIIH) TTDA
Syndrome de Cockayne	Arrêt de croissance (nanisme), déficience mentale, photosensibilité	Réparation préférentielle de l'ADN transcrit	CSA, CSB XPB,D,G
Syndrome de Bloom	Prédisposition au cancer Remaniements chromosomiques Instabilité génétique	Défaut d'une hélicase Réparation par recombinaison	BLM (homologue de RecQ)
Ataxia telangiectasia	Problèmes neurologiques, dilatation des vaisseaux, prédisposition au cancer	Pas d'arrêt du cycle en G1/S	ATM, ATR
Syndrome de Li Fraumeni	Prédisposition au cancer	Pas d'arrêt du cycle en G1/S	P53
Anémie de Fanconi	anémie, prédisposition aux leucémies, hypersensibilité aux agents pontants Instabilité chromosomique	Régulation de gènes de réparation	FANCA,C,D2,E,F,GA
Syndrome de Werner	vieillessement précoce instabilité génomique	Défaut d'une hélicase	WRN
HNPCC	Prédisposition au cancer du colon instabilité des microsatellites	Déficience du système dérapement des mésappariements	MSH2, MLH1

- Unicellulaires: une partie significative génome code pour réparation
- Homme: ∃ nombreux syndromes génétiques liés à défauts de réparation

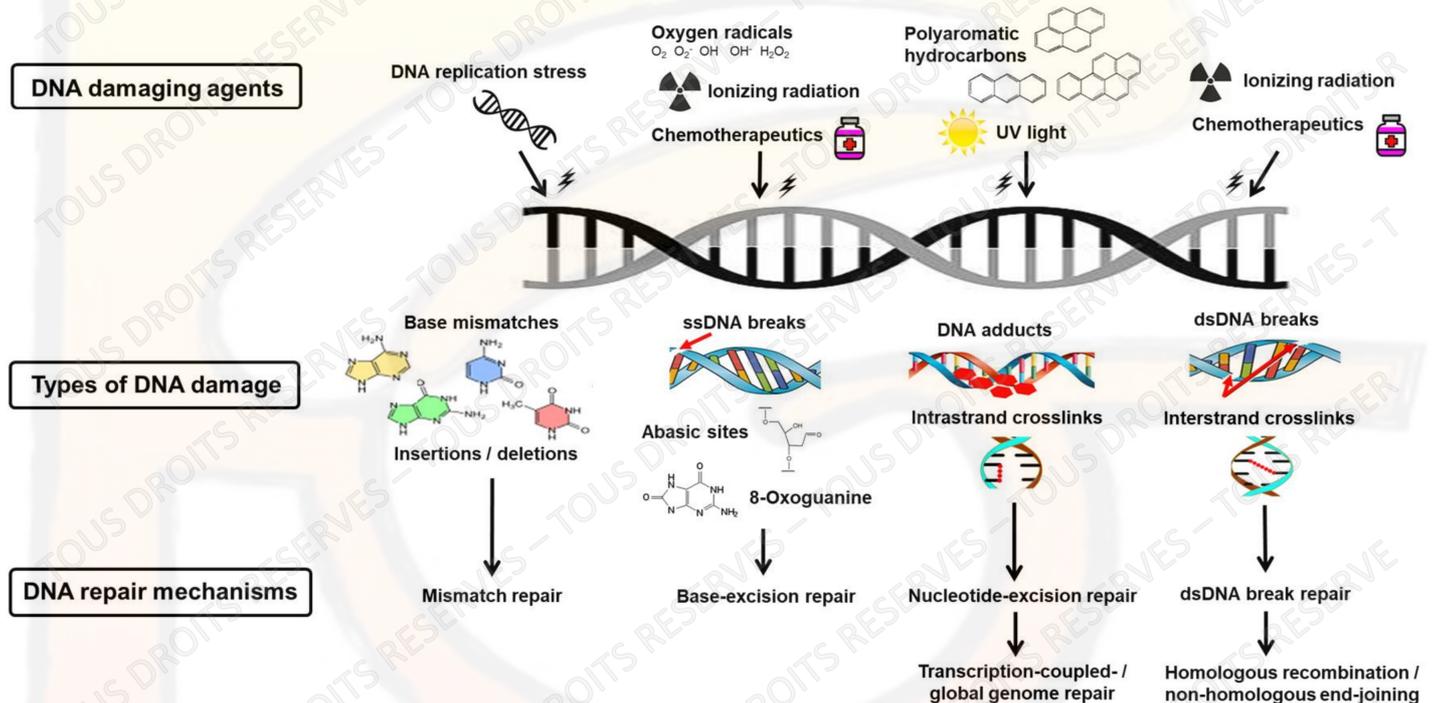
SYNDROME	CONSÉQUENCES	FONCTION AFFECTÉE
MSH2, MLH1, PMS2	cancer du colon	mismatch repair
Xeroderma pigmentosum	cancer de la peau	NER
Ataxie télangiectasique	leucémie, lymphome instabilité génomique	ATM Kinase activée par cassures double brin
BRCA-2	cancer sein, ovaire	recombinaison homologue
Syndrome de Werner	vieillessement prématuré cancer multiple sites	hélicase, 3'exonucléase
Syndrome de Bloom	cancer multiple sites	hélicase
Anémie de Fanconi	anomalies congénitales leucémie	réparation pontages inter-brin

1. PLATINUM CHEMOTHERAPY

Inflicts DNA damage via monoadducts and DNA crosslinking



Agents causatifs





Les taux de mutations sont augmentés par :

1- Erreurs de réplication

2- Exposition à des agents mutagènes :

- Carcinogènes contenus dans les fumées de cigarettes
- agents chimiques naturels (Aflatoxins)
- Radiations (UV, X, Gamma)

} Associés à des signatures spécifiques

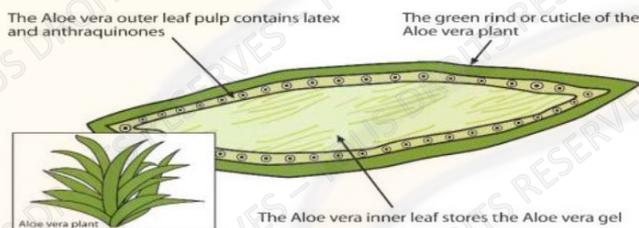
3 – situations génétiques particulières conduisant à des défaut de réparation des dommages de l'ADN:

- Anémie de Fanconi (15 gènes)
- Ataxia telangectasia (*ATM* (11q22.3))
- Syndrome d'Aneuploïdie en mosaïque (*BUB1B*, *CEP57*)
- Xeroderma pigmentosum (7 gènes, *POLH*)



Quelques éléments de réflexion

1- Aloe Vera...le produit à la mode (contamination par emodin, aloe emodin et danthron)



SCIENTIFIC OPINION



ADOPTED: 22 November 2017
doi: 10.2903/j.efsa.2018.5090

Safety of hydroxyanthracene derivatives for use in food

2- Absence de quantification des doses de rayonnements reçus par an

3- Ondes ?

4- Exposition au benzène.



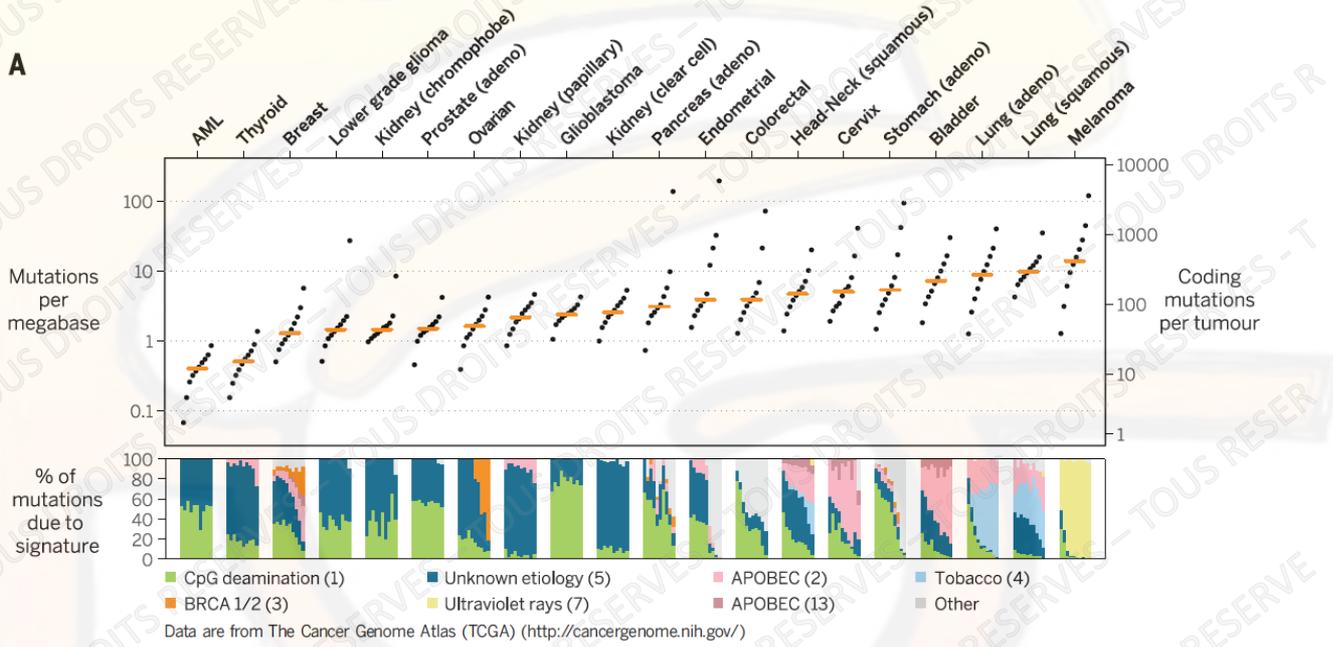
World Health Organization

PREVENTING DISEASE THROUGH HEALTHY ENVIRONMENTS

EXPOSURE TO BENZENE:
A MAJOR PUBLIC HEALTH CONCERN



A



Somatic mutation in cancer and normal cells

Inigo Martincorena and Peter J. Campbell

Science 349 (6255), 1483-1489.

DOI: 10.1126/science.aab4082



Futures stratégies thérapeutiques

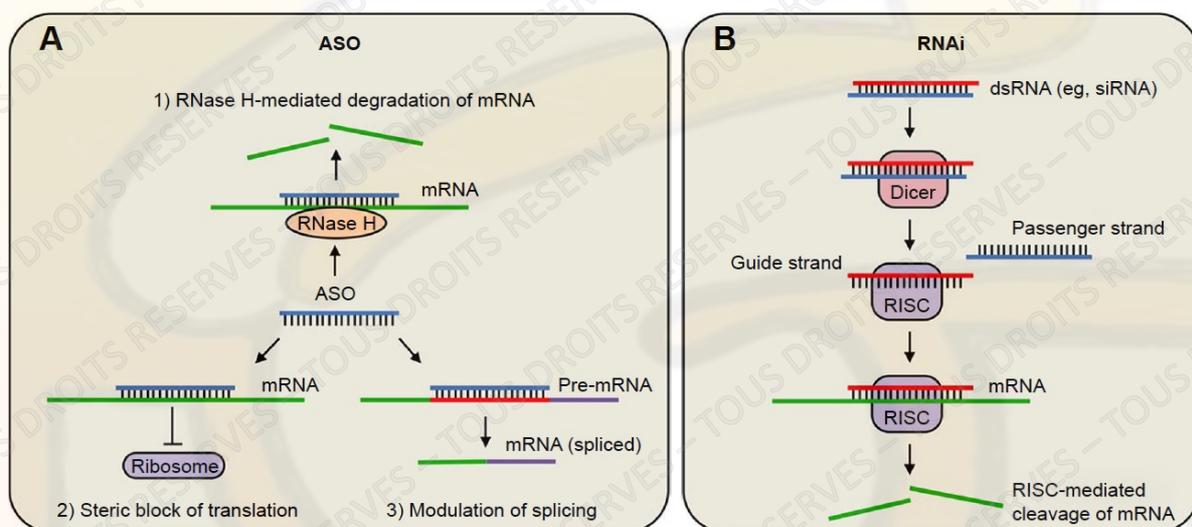


2000 :

- Environ 3000 protéines sont codées par des gènes associés à des pathologies.
- Seulement 600 à 1500 peuvent être ciblées par des petites molécules.
- La majorité des thérapies ciblées visent des protéines membranaires ou circulantes.
- Difficulté d'un ciblage précis, 80% de ces protéines contrôlent plus d'un mécanisme.
- Problèmes de sécurité reposant sur les doses utilisées.

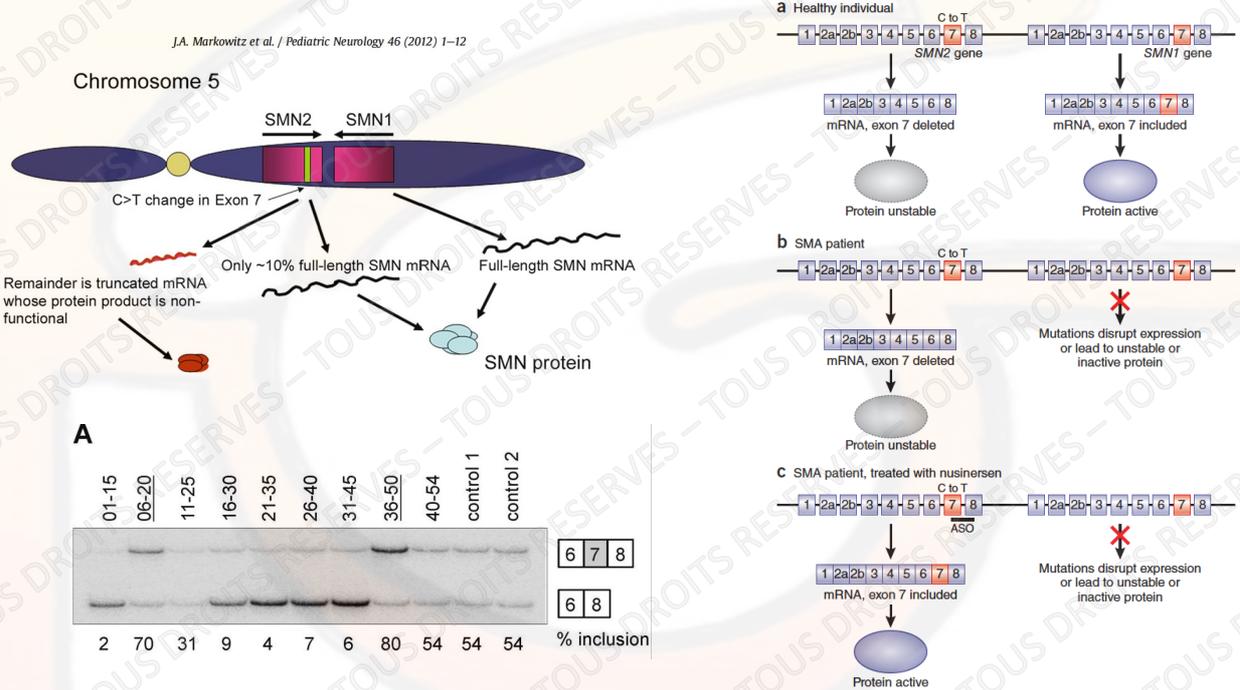
Vers un usage thérapeutique des ARN interférents

A



Indication : Traitement de la SMA (Atrophie Musculaire Spinale).

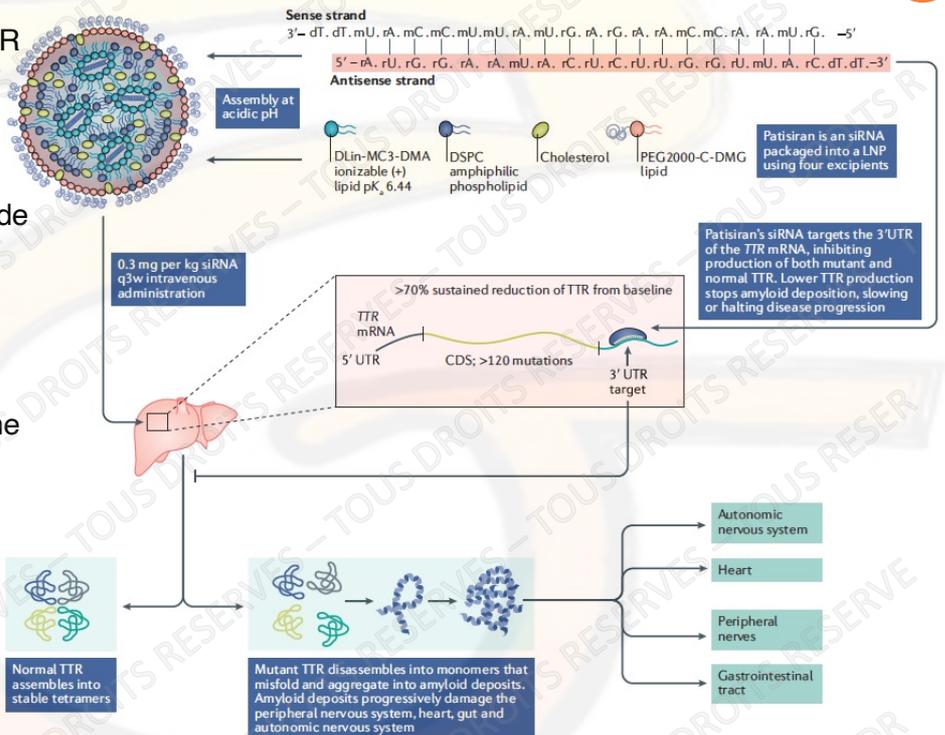
Première approche moléculaire par Spinraza® (nusinersen®) : ASO competitor.



Patisiran® (ALN-TTR02; ALN-18328)- Alnylam, Cambridge, MA, USA

Indication : Traitement de la hATTR (Transthyretin amyloidosis, Polyneuropathie amyloïde à transthyréine). Maladie neurodégénérative héréditaire causée par les dépôts amyloïdes de TTR au niveau du SNC, cœur, appareil digestif et autres. Survie médiane 5 à 15 ans après diagnostique.

Approche moléculaire de deuxième génération : LNP-SiRNA (cible hépatocytes par voie IV)



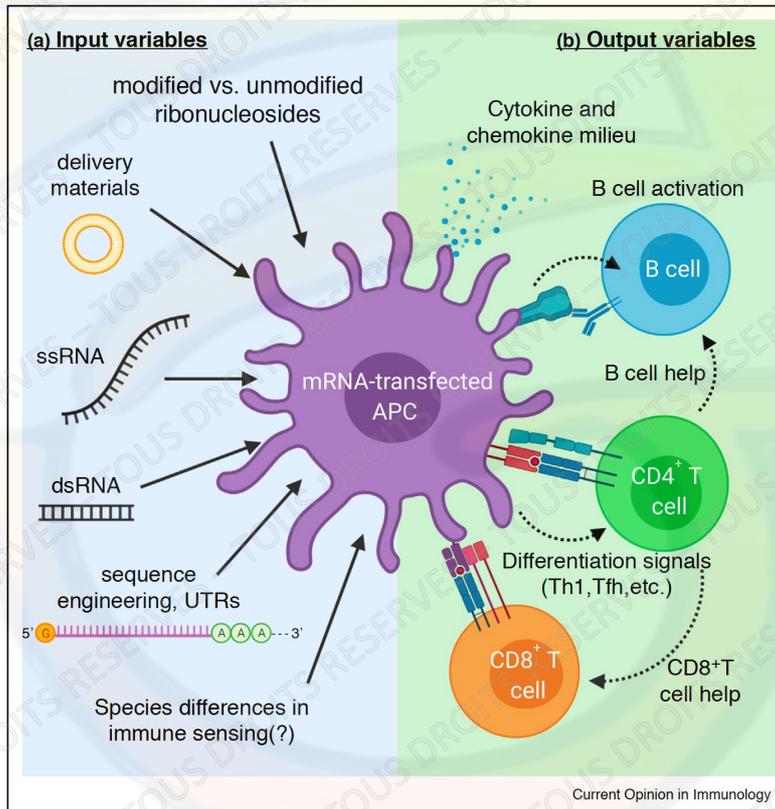


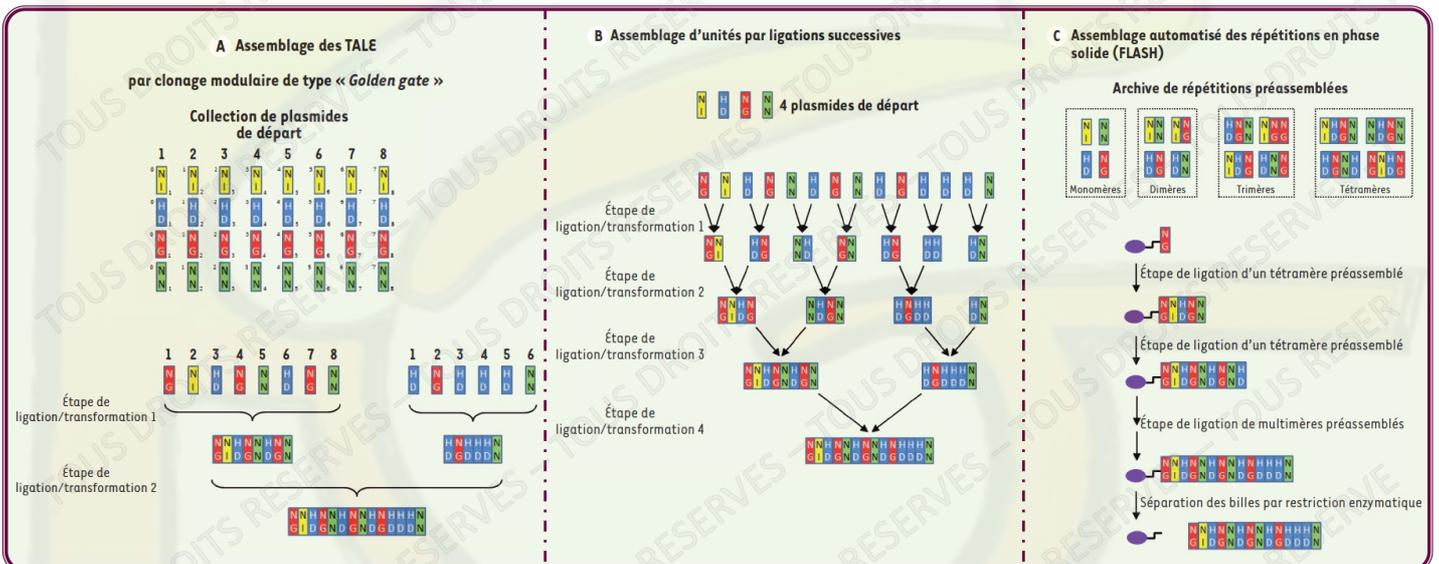
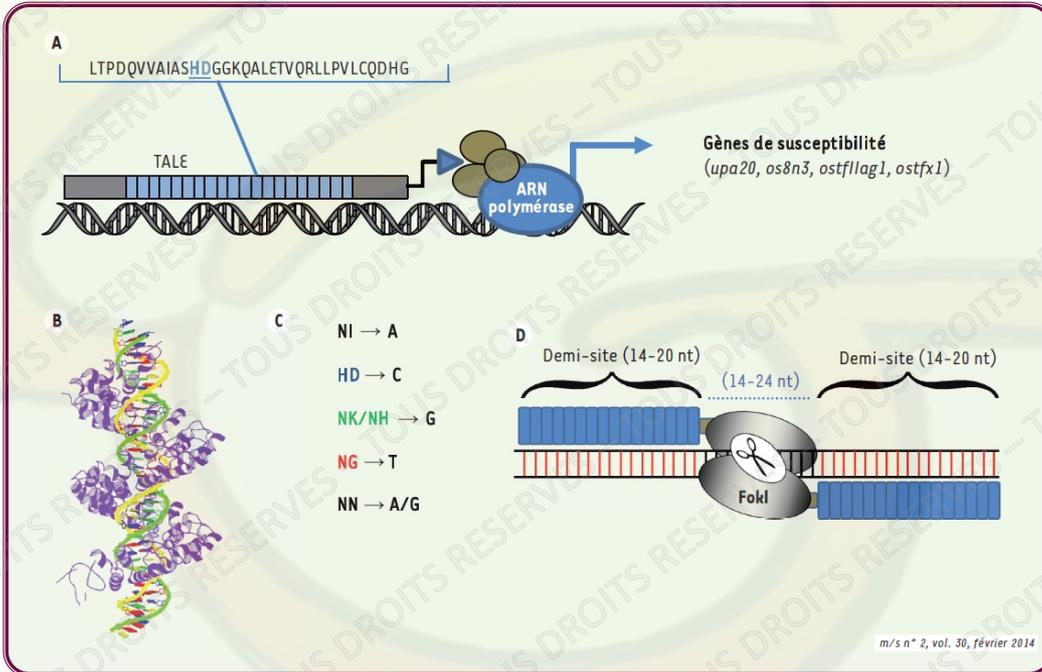
Table 1 Clinical trials with mRNA vaccines against cancer

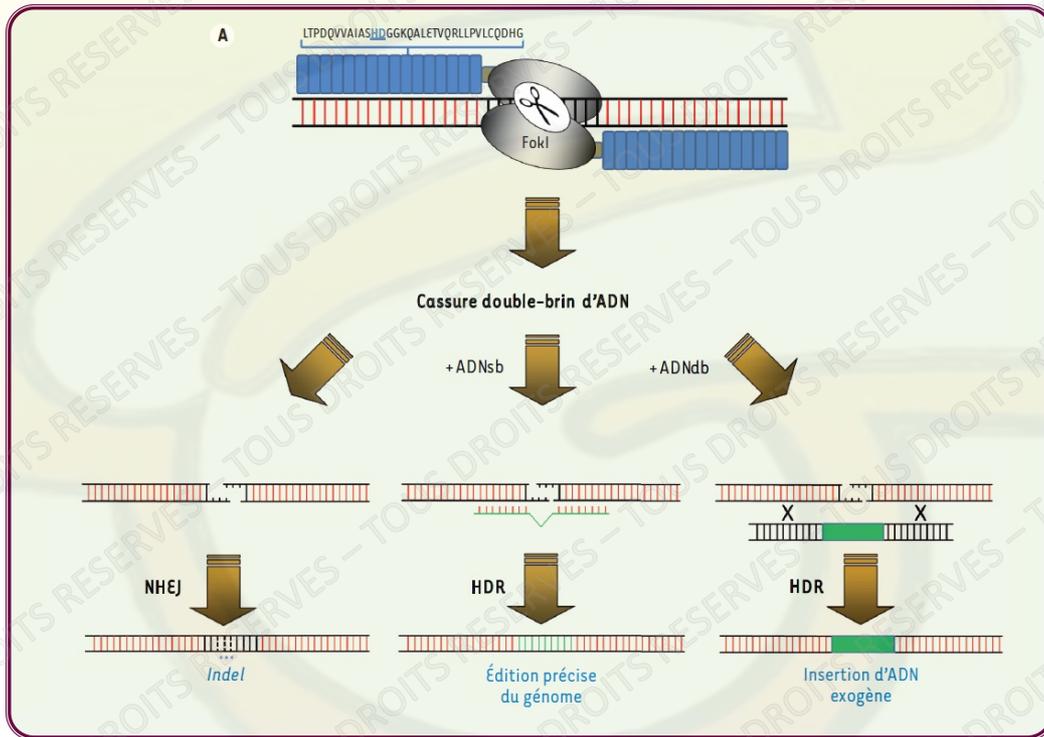
Cancer type	NCT number	Drug administration	Phase	Status
Non-small Cell Lung Cancer	NCT03164772	BI 1361849 (CV9202) + Durvalumab+/- Tremellimumab	III	Recruiting
	NCT03908671	Personalized mRNA vaccine encoding neoantigen	-	Not yet recruiting
	NCT02688686	Suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1, MUC1 and Survivin mRNA-loaded DC + cytokine-induced killer	III	Unknown
Ovarian Cancer	NCT04163094	W_oval1 + carboplatin/paclitaxel	I	Recruiting
	NCT01334047	DC-006 vaccine	III	Terminated
Melanoma	NCT01456065	DCs loaded with TERT-mRNA and Survivin-peptide	I	Unknown
	NCT00204607	mRNA+GM-CSF	III	Completed
	NCT00978913	DCs transfected with hTERT, survivin and p53	I	Completed
	NCT00940004	Dendritic cells electroporated with mRNA encoding gp100 and tyrosinase	III	Completed
	NCT01066390	TiMix-DC	I	Completed
	NCT02285413	DCs loaded with mRNA encoding tumor-associated antigens gp100 and tyrosinase +/- cisplatin	III	Completed
	NCT00204516	mRNA coding for melanoma associated antigens+GM-CSF	III	Completed
	NCT01278940	mRNA-transfected DCs + IL-2	III	Completed
	NCT01530698	autologous dendritic cell vaccine by mRNA Electroporation	III	Completed
	NCT00343529	Autologous dendritic cell vaccine	III	Completed
NCT03897881	mRNA-4157 + pembrolizumab	II	Recruiting	
NCT01456104	Autologous Langerhans-type dendritic cells electroporated with mRNA encoding a tumor-associated antigen	I	Active, not recruiting	
NCT02410733	Lipo-MERIT	I	Active, not recruiting	
NCT00961844	Dendritic cells - transfected with hTERT, survivin- and tumor cell derived mRNA+ex vivo T cell expansion and reinjection+Temozolomide	III	Terminated	
NCT03480152	(NC)-4650, a mRNA-based, personalized cancer vaccine	I	Terminated	
NCT00929019	Autologous dendritic cells electroporated with mRNA	III	Terminated	
Brain Cancer (mainly glioblastoma)	NCT00846456	Tumor stem cell derived mRNA-transfected dendritic cells	III	Completed
	NCT00626483	CMV pp65-LAMP mRNA-loaded DC + GM-CSF	I	Completed
	NCT03548571	DCs transfected with mRNA encoding survivin and hTERT+temozolomide	III	Completed
	NCT03927222	Human CMV pp65-LAMP mRNA-pulsed autologous DCs + temozolomide+tetanus-diphtheria toxinid+GM-CSF	II	Recruiting
	NCT02649582	Autologous WT1 mRNA-loaded DC + temozolomide	III	Recruiting
	NCT03688178	Human CMV pp65-LAMP mRNA-pulsed autologous DCs + temozolomide+varilumab+tetanus-diphtheria (Td) toxinid+111In-labeled DCs + unpulsed DCs	III	Recruiting
	NCT02465268	pp65-gH-LAMP mRNA DCs + GM-CSF	II	Recruiting
	NCT02808416	Personalized cellular vaccine	I	Active, not recruiting
	NCT02709616	mRNA-TAA pulsed autologous DC	I	Active, not recruiting
	NCT00639639	CMV-ALT+CMV pp65-LAMP mRNA-loaded DC (CMV-DC)	I	Active, not recruiting
	NCT02366728	Human CMV pp65-LAMP mRNA-pulsed autologous DCs	II	Active, not recruiting
	NCT01291420	WT1 mRNA-electroporated autologous dendritic cell	III	Unknown
NCT00890032	BTSC mRNA-loaded DCs	I	Unknown	
Prostate Cancer	NCT01278914	mRNA-transfected dendritic cells	III	Completed
	NCT01446731	DCs transfected with PSA, PAP, survivin and hTERT mRNA+docetaxel	II	Completed

Table 1 Clinical trials with mRNA vaccines against cancer (Continued)

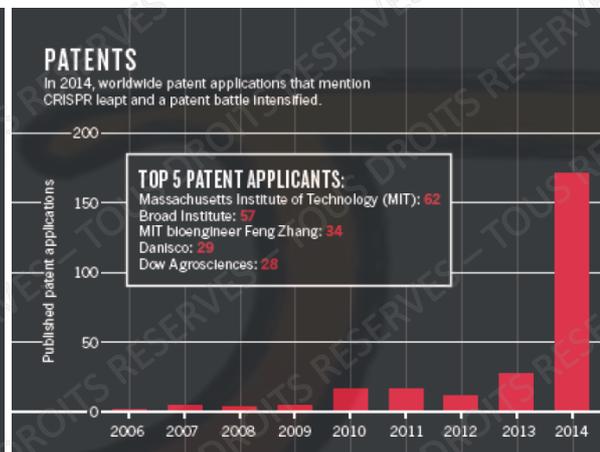
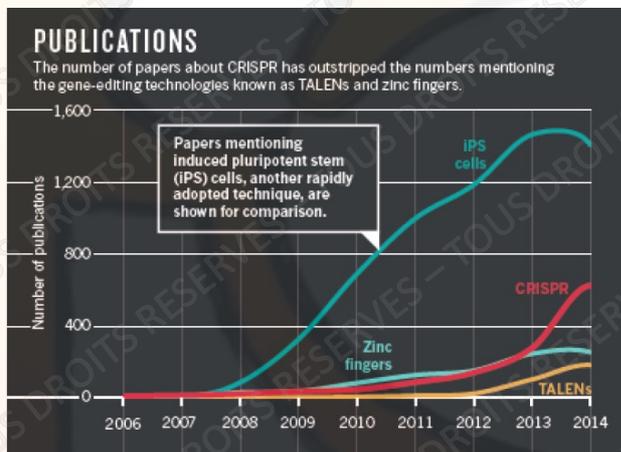
Cancer type	NCT number	Drug administration	Phase	Status
Blood System Cancer (leukemia mainly)	NCT02692976	DC loaded with protamine/mRNA encoding keyhole limpet hemocyanin (KLH) + DC loading with MHC I binding peptides, NY-ESO-1 and MUC1 PepTivator*	II	Completed
	NCT01197625	Dendritic cell vaccine	III	Active, not recruiting
	NCT01151313	Human telomerase reverse transcriptase mRNA (hTERT mRNA) transfected dendritic cell	III	Withdrawn
	NCT02140138	CV9104	II	Terminated
	NCT02452307	Peptide vaccine+montanide ISA-51+/-GM-CSF+/-Imiquimod+/-mRNA/protamin	III	Unknown
	NCT00834002	Wilms Tumor Gene (WT1) mRNA-transfected autologous dendritic cell	I	Completed
	NCT01734304	DCs electroporated with mRNA encoding WT1, PRAME, and CMVpp65	III	Completed
	NCT00510133	GRNVAC1 (mRNA encoding human telomerase reverse transcriptase (hTERT) and a portion of the lysosome-associated membrane protein LAMP-1 (LAMP1))	II	Completed
	NCT02528682	MHA mRNA-loaded PD-L-silenced DC	III	Completed
	NCT01686334	Autologous WT1 mRNA-electroporated DCs	III	Recruiting
Digestive System Cancer	NCT01995708	CT7, MAGE-A3, and WT1 mRNA-electroporated Langerhans cells (LCs)	I	Active, not recruiting
	NCT03083054	Autologous dendritic cells electroporated with WT1 mRNA	III	Active, not recruiting
	NCT00514189	Autologous dendritic cells	I	Terminated
	NCT00965224	mRNA coding for Wilms' tumor antigen WT1	II	Unknown
NCT00228189	CEA mRNA-loaded DCs	III	Completed	
NCT03468244	Personalized mRNA vaccine encoding neoantigen	-	Recruiting	
NCT02692326	Adenovirus-transfected autologous DCs + CK cells	III	Unknown	

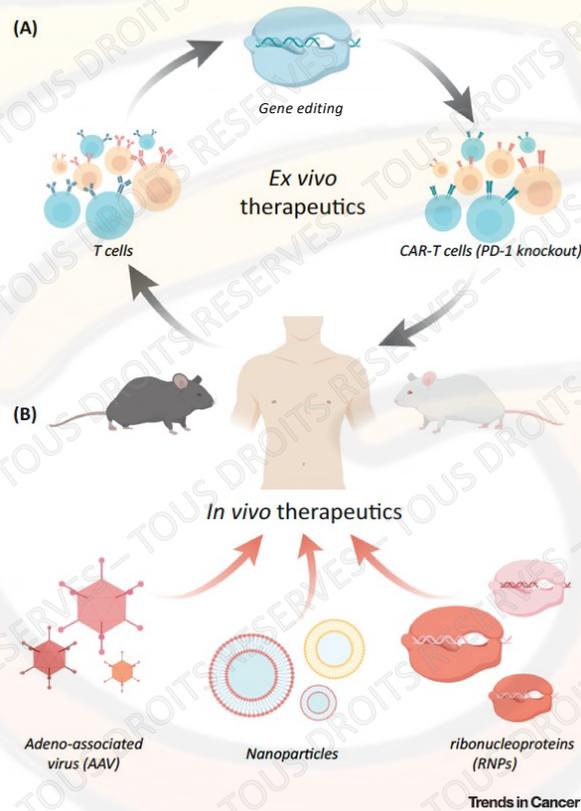
TALEN : Transcription Activator-Like Effector Nuclease





Genome editing – le système CRISPR/Cas9





Thérapie génique germinale et somatique

Thérapie génique germinale :



- recombinaison homologue entre deux gènes
 - gène sain qui remplace gène pathologique
 - invalidation d'un gène
- => microinjection d'ADN dans un embryon

Thérapie génique somatique :

- modification génique d'un groupe de cellules voire d'un organe entier



Comité international
de bioéthique (CIB)

SHS/YES/IBC-22/15/2 REV.2
Paris, 2 octobre 2015
Original : anglais / français

Distribution : limitée

Rapport du CIB sur la mise à jour de sa réflexion sur le génome humain et les droits de l'homme

A B

Un panel de l'UNESCO composé de scientifiques, de philosophes, de juristes et de ministres a appelé à une interdiction temporaire de « l'ingénierie » génétique de la lignée germinale humaine, appelant à un débat public plus large sur les modifications génétiques de l'ADN humain.

...Dans ce rapport, les experts soulignent que « la thérapie génique pourrait être un bond en avant dans l'histoire de la médecine et que l'ingénierie des génomes est sans doute l'une des entreprises les plus prometteuses de la science pour le bien de l'humanité toute entière ».

Mais le rapport du CIB (Comité international de bioéthique) avertit que « cette révolution semble nécessiter des précautions particulières et soulève de graves inquiétudes, en particulier si l'ingénierie du génome humain devrait être appliqué à la lignée germinale en introduisant des modifications héréditaires, qui seraient transmises aux générations futures ».

Le CIB a donc appelé, lors de sa réunion, à un moratoire sur cette procédure spécifique sur le génome humain et les droits de l'homme.

« (...) les interventions sur le génome humain ne sont admises que pour des raisons préventives, diagnostiques ou thérapeutiques et sans apporter de modifications chez les descendants, » dit le CIB, faisant valoir que « l'alternative serait de mettre en péril la dignité inhérente et donc égale de tous les êtres humains et de faire renaître l'eugénisme ».

<https://fr.unesco.org/news/panel-dexperts-lunesco-demande-moratoire-lingenierie-ladn-humain-eviter-modifications>



Pour votre culture ... et votre réflexion : La conférence d'Asilomar, 1974

B

Proc. Nat. Acad. Sci. USA
Vol. 72, No. 6, pp. 1981-1984, June 1975

Summary Statement of the Asilomar Conference on Recombinant DNA Molecules*

PAUL BERG†, DAVID BALTIMORE‡, SYDNEY BRENNER§, RICHARD O. ROBLIN III¶, AND
MAXINE F. SINGER||

Organizing Committee for the International Conference on Recombinant DNA Molecules, Assembly of Life Sciences, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, D.C. 20418. † Chairman of the committee and Professor of Biochemistry, Department of Biochemistry, Stanford University Medical Center, Stanford, California; ‡ American Cancer Society Professor of Microbiology, Center for Cancer Research, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass.; § Member, Scientific Staff of the Medical Research Council of the United Kingdom, Cambridge, England; ¶ Professor of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, and Assistant Bacteriologist, Infectious Disease Unit, Massachusetts General Hospital, Boston, Mass.; and || Head, Nucleic Acid Enzymology Section, Laboratory of Biochemistry, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland

The new techniques, which permit combination of genetic information from very different organisms, place us in an area of biology with many unknowns. Even in the present, more limited conduct of research in this field, the evaluation of potential biohazards has proved to be extremely difficult. It is this ignorance that has compelled us to conclude that it would be wise to exercise considerable caution in performing this research.

But it was also recognized that future research and experience may show that many of the potential biohazards are less serious and/or less probable than we now suspect.

Although our assessments of the risks involved with each of the various lines of research on recombinant DNA molecules may differ, few, if any, believe that this methodology is free from any risk. Reasonable principles for dealing with these potential risks are: (i) that containment be made an essential consideration in the experimental design and, (ii) that the effectiveness of the containment should match, as closely as possible, the estimated risk.



Comité Consultatif National d'Éthique

Pour les sciences de la vie
et de la santé

Rechercher



<https://etatsgenerauxdelabioethique.fr>



Merci de votre attention

franck.gesbert@universite-paris-saclay.