



Présents : V. Amarger, S. Ferré, J. Guicheux, F. Halary, J-M. Heslan, M-T. Le Cabellec, C. Le Guiner, P. Lemarchand, J. Le Pendu, M. Liabeuf, M. Neunlist, T.H. Nguyen, H. Pillet, A. Royer, F. Verrecchia

Excusés : V Sébille

Présentation de la PF d'édition du génome avec le système CRISP/Cas

Une plateforme de CRISPR à façon va être ouverte en juin 2014 (cf fichier de présentation de la plateforme par Tuan H. Nguyen, responsable scientifique de cette nouvelle plateforme).

Le plateforme sera associée à la SFR et est ouverte à toutes les équipes académiques et éventuellement aux biotechs intéressées. Elle est hébergée à l'UMR 1064.

Demandes d'équipements (appel d'offres Région >100 k€) : possibilité de cofinancement SFR

La SFR pourra participer au cofinancement d'un gros équipement dans le cadre de l'appel d'offres Région équipements > 100 k€. Le cofinancement SFR sera de 50 000€ maximum, pour un seul équipement. Ces fonds viennent de reliquats des cofinancements des équipements achetés en 2013 sur le CPER, ce sont des fonds universitaires.

En pratique, les dossiers COMPLETS de demande de gros équipements doivent être adressés au plus tard pour le mercredi 25 juin à 14hr :

- à la nouvelle secrétaire de la SFR, Mme Claudine Quillaud, par voie électronique (claudine.quillaud@univ-nantes.fr) + un exemplaire papier à déposer à son bureau (RDC de l'IRS-UN, à côté de la salle 3),
- à Mme Nathalie Nguyen (DRPI, nathalie.nguyen@univ-nantes.fr + un exemplaire papier à déposer à la DRPI).

Ils seront interclassés par le Conseil de la SFR le mardi 1er juillet à 16hr (prévoir 3 minutes de présentation par le porteur de la demande ou son représentant lors du Conseil de SFR).

Le dossier classé n°1 lors du Conseil de SFR, pourra bénéficier de ce cofinancement de 50 000€. Les critères principaux de sélection du projet seront la mutualisation de l'équipement et le nombre d'équipes impliquées, le positionnement de l'équipement sur une PF pour en garantir l'accès à tous.

Informatique et pôle d'assistance de proximité Santé

Deux informaticiens ont été recrutés : François Peynaud (CHU), en remplacement de Joëlle Véziers, et Damien Le Breton (Univ) en remplacement de Mathieu Le Neué, qui est affecté pour deux ans à un poste d'administrateur de serveurs et réseaux sur la plateforme BIRD. **Le système de tickets** à remplir pour le dépannage informatique courant*, déjà opérationnel à l'IRS-UN, sera mis en place à l'U1064 et l'U791, à **partir du 1^{er} juin 2014**. Un technicien informatique va être recruté pour 2 mois (juillet-août), sa tâche n°1 sera la mise à jour des ordinateurs encore sous Windows XP.

Aide exceptionnelle congrès Cell Death in Cancer

Une aide exceptionnelle de la SFR d'un montant de 2 500€ a été accordée à François Vallette dans le cadre de l'organisation du congrès Cell Death in Cancer.

Désormais, la SFR réservera une enveloppe de 5 000€ à 10 000€ pour une participation à l'organisation de Congrès, avec une demande possible en début de chaque semestre (janvier et juillet) pour un congrès dans les 6 mois-1 an qui suivent. La possibilité de la participation financière de la SFR aux séminaires proposés par la SFR est également évoquée.

Prochain conseil : mardi 1^{er} juillet 2014, 16h hall de l'IRS-UN

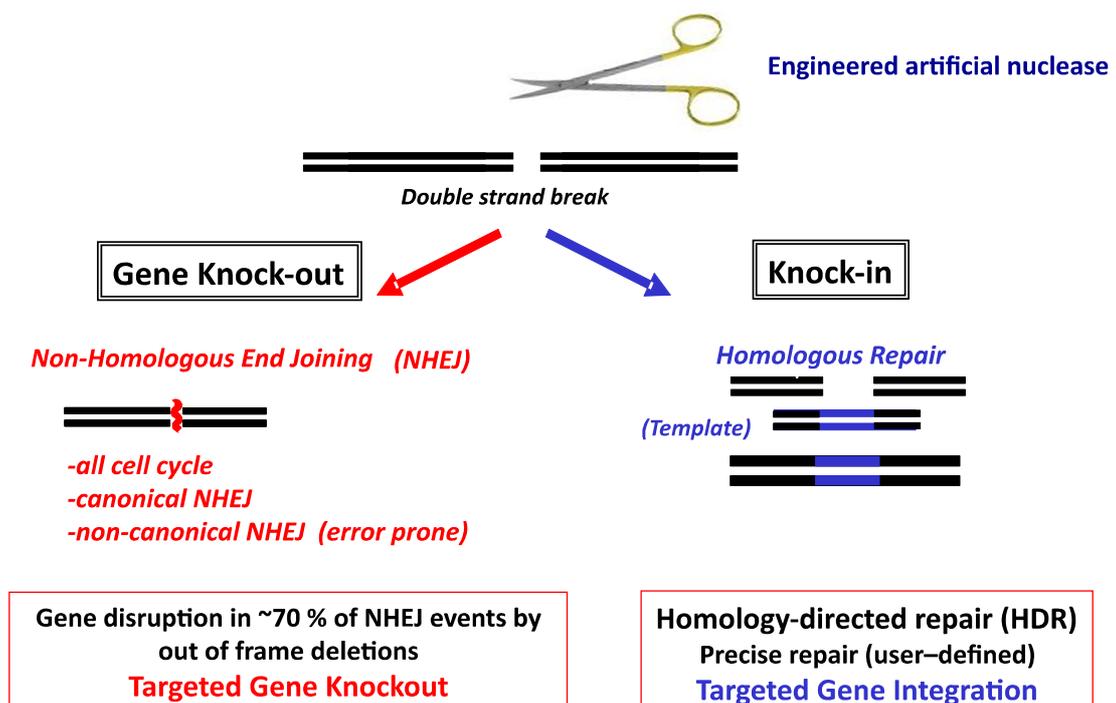
*ticket informatique accessible sur <http://rt.univ-nantes.fr/sfr> ou disponible sur l'intranet de la SFR (accessible sur le site de la SFR), avec login et mot de passe Université identiques à ceux de l'adresse mail univ-nantes.fr

Plateforme d'édition du génome avec CRISPR/Cas

Tuan H. NGUYEN

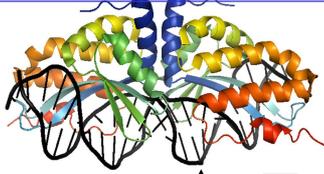
Conseil SFR 27mai 2014

The concept of Genome editing



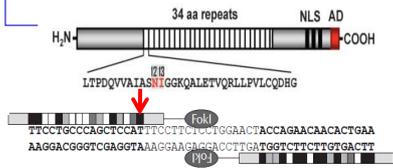
Types of nucleases

Meganucleases
(G. Silva Curr Gene Ther. 2011)



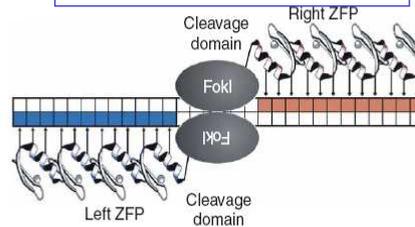
5'-CAAAACGTCGTGA GACAGTTT-3'
3'-GTTTTGCAG CACTCTGTCAAAC-5'

Transcription activator-like nucleases (TALEN) (AJ. Bogdanove Science 2011)



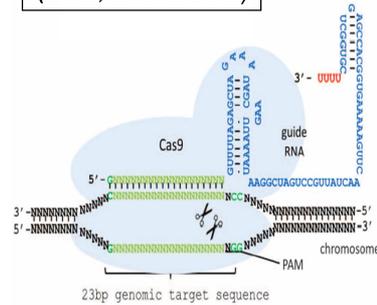
Presque partout (Boch, science 2009 ;
Moscou science 2009)

Zinc-finger nucleases
(D. Carroll Curr Gene Ther. 2011)



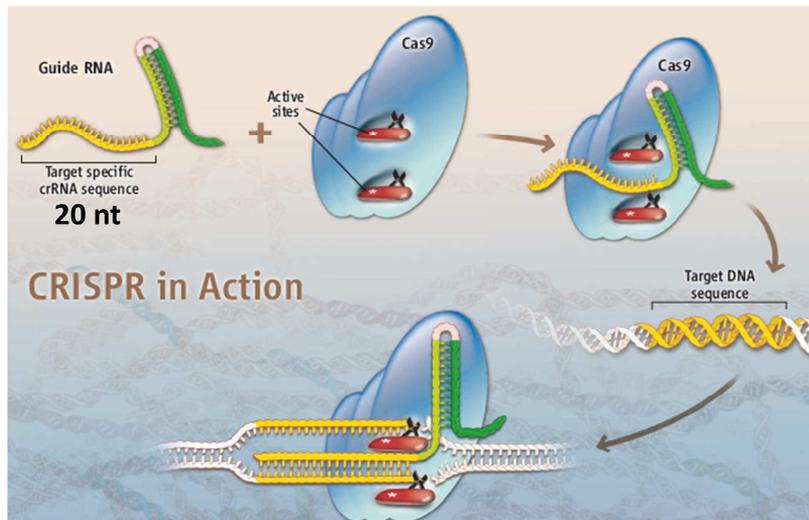
Tous les 1kb (Kim, PNAS 1996)

CRISPR/Cas
(Jinek, science 2012)

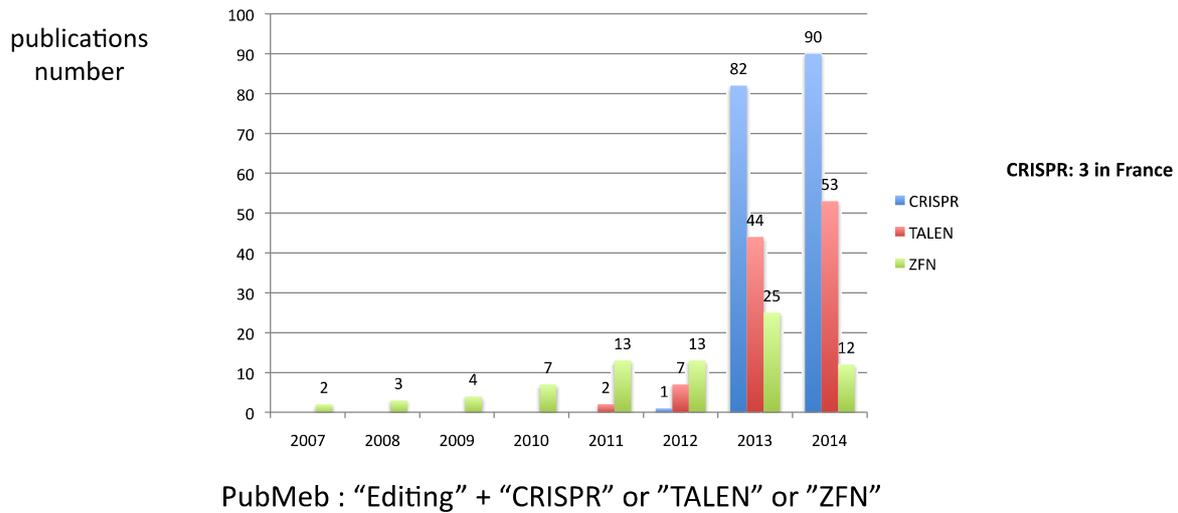


Tous les 8nt

CRISPR/Cas9 system



« CRISPR CRAZE » - « CRISPR SPEED »



Very easy to program (guide RNA: 20 nt)
Very fast to generate (cloning of a 20 nt seq gRNA)
Very cost-effective
Highly-efficient
Works in almost all species

Applications

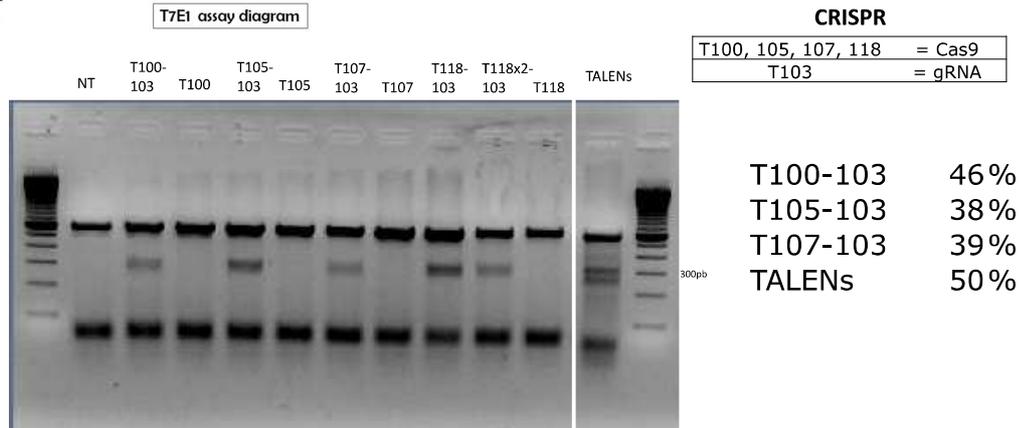
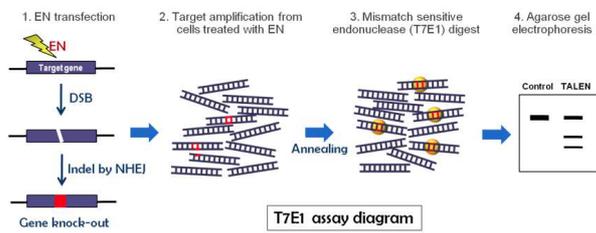
- Gene KO
- Gene KI
- specific mutation(s)/insertion/deletion
- Gene tagging (reporter gene)
- Knock-in
- Gene therapy

Examples of CRISPR/Cas-engineered organisms

species	references
rat	Li D, Nat Biotech 2013; Li W, Nat Biotech 2013; Li W, Cell Stem Cell. 2014; Ma, Plos One 2014
mice	Yang cell 2013; Fujii, Nucleic Acids Res. 2013; Yin, Nat Biotechnol. 2014 ; Zhou, FEBS J. 2014
Zebrafish	Sung et al., genome research 2013; Chang cell research 2013; Hruscha Development. 2013
Human cells	Malik science 2013; Conh science 2013; Zhou Nature. 2014; Yang, Methods Mol Biol. 2014
Cynomolgus	Niu et al, cell 2014
Bacteriophage	Kiro, RNA Biol. 2014
Bacteria	Jiang Nat Biotech 2013; Copeland, Curr Opin Biotechnol. 2014
Drosophila	Beumer, Methods. 2014; Bassett, J Genet Genomics. 2014
yeast	DiCarlo, Nucleic Acids Res. 2013
Plant	
Rice	Miao, Cell Res. 2013; Feng, Cell Res. 2013; Xie, Mol Plan 2013
Sweet orange	Jia Plos One 2014
Tobacco	Jiang, Nucleic Acids Res. 2013
Wheat	Shan, Nat Biotechnol. 2013; Upadhyay, G3 (Bethesda). 2013
Xenopus	Guo, Development. 2014
Nematode	Chiu, Genetics 2013; Katic, Genetics 2013; Zhao, Cell Res. 2014

Gene editing– Validation of CRISPR/cas system

- sgRNA AAVS1
- Transfection of 293T : cas9+sgRNA
- Day 3: total DAN extraction + mutation detection assay T7E1 assay



Generation of Ugt1A1-deficient rat using CRISPR/Cas technology

- Validate the technology in the rat
- Generate a SCID rat modeling Crigler-Najjar (Liver disease) : KO UGT1A1
new pre-clinical model for assessing therapeutic efficacy of human hepatocytes (iPS)

injected embryos : 144
viable embryo : 107
transferred embryos :101
Pups : 26
Homozygotes : 3 (2F+1M)

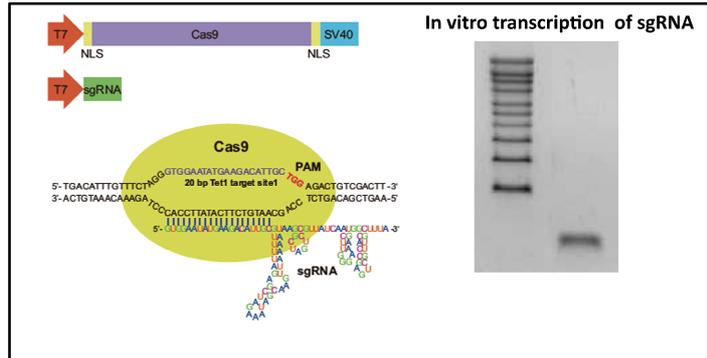
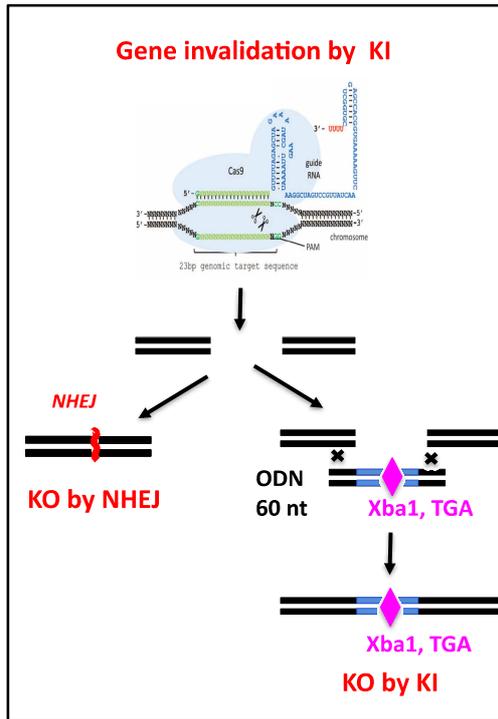


WT **KO**



WT **KO**

TRANSGENIC RAT Knock-out for CFTR



CFTR (exon 2)
TGGACCACCAATTTTGAGAAAAGGTTACAGACACCCTTGGAGCTGTCAGACATATACCA
AGCCCTTCTTTGATTCAGCTGACCACCTGCTGAAAAGCTAGAAAAG

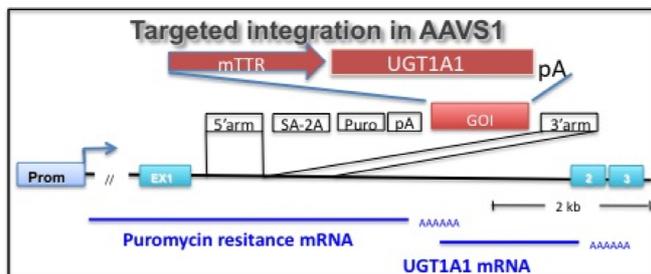
30(fs-1)31
GAGCTGTCAGACATATACCAAGCCCTTCTAGATTCAGCTGACCACCTGCTGAAAAGCTAGAAAAG

Xba1 = TCTAGA + 2 stop

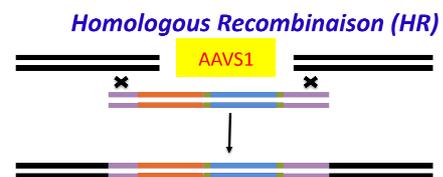
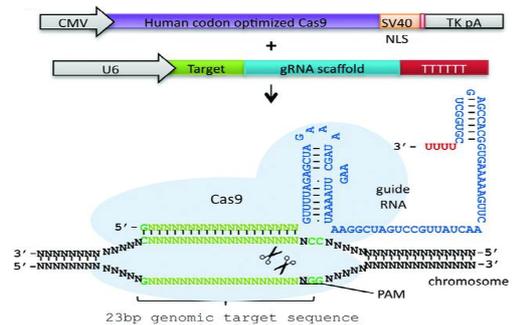
**FO: 11 (+) out 32 animals (34%)
(sgRNA: 13% activité in vitro)**

Personalized regenerative medicine using autologous iPSC

**Gene editing strategy:
Integration of a therapeutic cassette in « safe harbor locus »**



Puromycine selection
Clone amplification
Bank of corrected hiPS



Mise en place de l'activité CRISPR

Depuis Octobre 2013 : 15 projets

Inserm U1064:

hiPSC liver, TH Nguyen

Anti-CMV, F. Haspot, F. Halary

KO immunoregulatory gene, C. Louvet, B. Vanhove

KO/KI rat, I. Anegon

Inserm UMR 1087: **hiPSC heart**, N. Gaborit, P. Lemarchand

Collaboration nationale

INSERM U565: **KI rat**, JP Concordet,, C Giovannangeli

CIGM, Institut Pasteur: **KO mice**, FL. Vives

Collaboration internationale

Laboratory of Clinical Investigation III (Geneva): **CFTR KO**, M Chanson

Institut Pasteur de Montevideo (Uruguay): **KO Sheep**, M. CRISPO

University of Michigan: **adenoviral vector**, C. Maria

Helmholtz Centre for Infection Research (Germany): **AAV vector**, E. Charpentier

Prestation

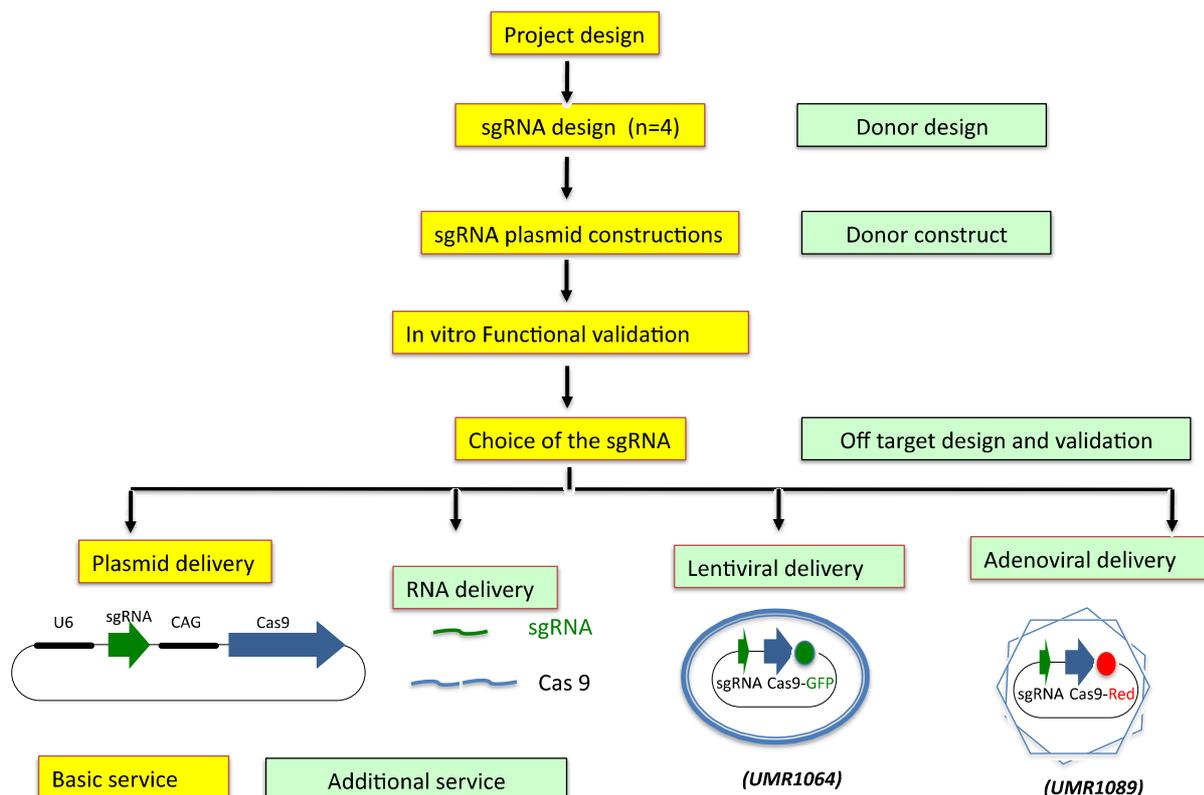
Rat Transgenesis plateforme: **Rat KO/KI**, Ignacio Anegon

Inserm UMR 1089: **KI in human cells**, P. Moullier

Services of the CRISPR Plateform

Responsables: TH Nguyen, I. Anegon

Ingénieurs : A. Creneugy (50% CRISPR, CDD 2-3 years), L. Tesson (10%, KI, CHU staff)



Add Values of the CRISPR Platform

- ✓ Advice on the global project
- ✓ In cellulo validation of sgRNA
- ✓ Off-target
- ✓ KI donor design
- ✓ Vectorization
- ✓ Flexibility and adaptability
- ✓ Technological survey
- ✓ Formation
- ✓ Cost effective
- ✓ New sgRNA if fails in target cells

Tarifications

	Chercheur SFR (sans salaire)	Chercheur Non SFR (25% salaire)	Société (100% salaire)
Prestation de base	250	450	1000

www.horizondiscovery.com

Options and Pricing

Custom Guide RNA Service	Single	Double
Design	\$200	\$225
Design & Oligo(s)	\$325	\$400
Design & Cloning*	\$650	\$975
Design, Cloning* & Validation	\$900	\$1200

* Additional guide RNA plasmids for the same target: \$200

Adenovirus packaging service is available at \$3550

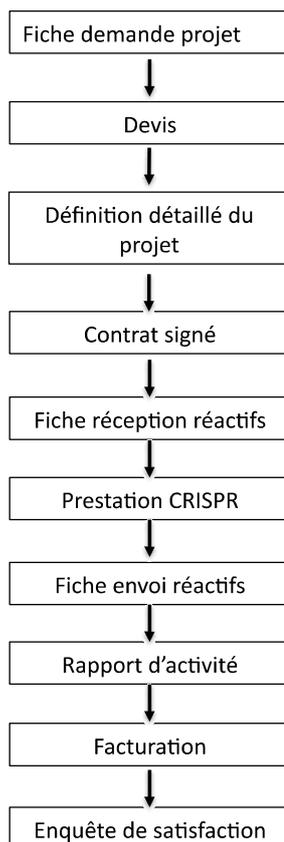
All prices are intended for academic research use, please contact Horizon for commercial pricing

Please note that these products are governed by [Limited Use Label Licenses](#)

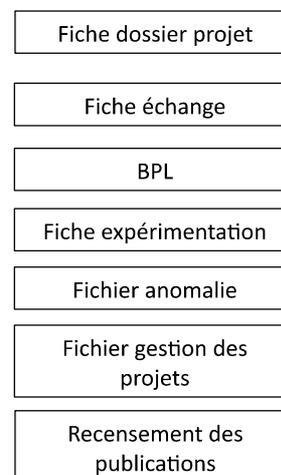
Sigma
1 sgRNA non validated : 500 euros

Démarche qualité

Gestion de la prestation



Gestion des projets



Plan de développement

Juin 2014 : Ouverture de la plateforme

Annonce SFR et Biogenouest

Déc 2014 : Bilan de l'activité

2015-2016 : Labélisation Biogenouest

Recrutement de personnel 100% CRISPR