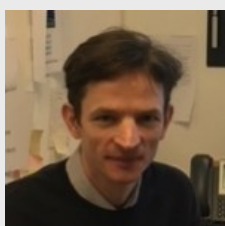


Camille Fouassier
Responsable de la plateforme



Michel Wassef
Directeur Scientifique
Tél : +33 (0)1 56 24 65 57



Raphaël Margueron
Directeur Scientifique
raphael.margueron@curie.fr
Tél : +33 1 56 24 65 51

Ces dernières années ont été marquées par l'émergence de nouvelles technologies de modification du génome. La dernière en date, le système CRISPR/Cas9, permet, par sa grande flexibilité, d'introduire des mutations sur l'ensemble des gènes connus. Créée en septembre 2017, la plateforme CRISPRit utilise la technologie CRISPR/Cas9 à des fins des cribles génétiques lentiviraux sur lignées

cellulaires. Les développements actuels visent à appliquer cette technologie aux organoïdes ou xénogreffes dérivées de patients.

Les cribles génétiques sont de puissants outils permettant l'exploration de la fonction de l'ensemble des gènes du génome à travers la mutagenèse par le système CRISPR ou la modulation de l'expression des gènes (CRISPRa - activation ou CRISPRi - inhibition).

Deux types de cribles peuvent être envisagés :

- Les cribles positifs permettent d'identifier les gènes dont la mutation, la baisse d'expression ou la surexpression, confère un avantage prolifératif en réponse à une pression sélective (en présence de molécules thérapeutiques par exemple). Ce type de crible est particulièrement utilisé pour étudier le mécanisme de résistance aux traitements contre les cancers. Il peut aussi être utile pour l'étude de différents processus cellulaires lorsqu'une pression de sélection robuste est possible (par exemple, la sélection par antibiotique ou cytométrie en flux).
- Les cribles négatifs permettent d'identifier les gènes essentiels à la survie ou à la prolifération dans des conditions définies. Ce genre de crible est le plus souvent utilisé pour identifier des gènes essentiels dans un contexte particulier (par exemple, identification de létalités synthétiques).

Les bibliothèques CRISPR (à l'échelle du génome ou ciblées) sont délivrées sous forme d'un pool lentiviral sur les cellules. La représentation des sgRNAs est déterminée par séquençage à haut débit avant et après la sélection. Il est important de noter que cette approche permet l'utilisation de bibliothèques CRISPR visant l'ensemble des gènes mais peut également s'appliquer de manière plus ciblée à un ensemble restreint de gènes d'intérêt (par exemple une famille de gènes). Une analyse bioinformatique permet ensuite de déterminer l'enrichissement (cribles positifs) ou l'appauvrissement (cribles négatifs) en sgRNAs.

Missions

Parce que chaque projet est unique, la plateforme CRISPRit conseille les scientifiques dans leurs projets de criblage et supervise l'ensemble de la procédure de criblage, de la préparation des bibliothèques à l'analyse bioinformatique. Cela implique plusieurs étapes:

- 1- Préparation de la bibliothèque (génomique ou personnalisée) et contrôle de la qualité
- 2- Production et titrage du virus
- 3- Infection des cellules cibles et préparation des banques au séquençage

4- Séquençage haut débit par la plateforme NGS et contrôle qualité

5- Analyse bioinformatique

Collaborations

La plateforme CRISPR'it travaille en étroite collaboration avec les plateformes NGS et Bioinformatique de l'Institut Curie. Elles permettent de définir des candidats sortant d'un crible.

Le contrôle qualité et l'analyse bioinformatique sont réalisés respectivement par Marc Deloger et Pierre Gestraud (en photo ci-dessous).

