

2.2 Tableau d'association pour la construction d'un microorganisme génétiquement modifié (MGM)

Ce tableau décrit seulement les micro-organismes génétiquement modifiés. Les situations d'exposition (infections *in vitro* ou *in vivo*) sont à décrire dans les formulaires techniques 3, 4 et 5 (tableaux des associations 3.5.2 ; 4.4.2 et 5.4.2).

Microorganisme génétiquement modifié (MGM, produit final)				Modifications génétiques				Utilisation		
OGM final : nom taxonomique et nom de la souche originale utilisée	Classe du micro-organisme original, MOT le cas échéant	Méthode d'obtention du MGM et vecteurs utilisés	Hôtes intermédiaires pour produire le MGM (hors E. coli K12 pour les plasmides)	Type de modification génétique (menu déroulant)	Organisme donneur du transgène le cas échéant, et sa classe	Types de transgènes (insert A ou B ¹ , nom des gènes, fonction)	Effet attendu des modifications*	Classe de confinement proposée pour le MGM	Hôtes qui seront exposés au MGM	
Lignes 1-7 ci-dessous : Génétique inverse de quelques virus (influenza, Adeno, Bunya, Herpes, polio...)										
1	Orthomyxovirus Influenza aviaire Faiblement pathogène A/turkey/Italy/977/99	C2	Génétique inverse par transfection du vecteur pHW2000 (carte en PJ)	cellules humaines 293T, cellules canines MDCK	substitution d'un fragment de génome	Virus influenza aviaire hautement pathogène (C3)	Insert A, hémagglutinine H5	Virulence accrue	C3	Cellules : 3.5.2 ligne1 Poulets 4.4.2 ligne 3
2	Bunyvirales, orthohantavirus Pumaala	C2	Génétique inverse par transfection de plasmides xxx (cartes en PJ)	cellules humaines 293T	une ou quelques mutations ponctuelles			Phénotype sauvage	C2	
3	Orthomyxovirus Influenza aviaire Faiblement pathogène A/turkey/Italy/977/99	C2	Génétique inverse par transfection du vecteur pHW2000 (carte en PJ)	cellules humaines 293T, cellules canines MDCK	substitution d'un fragment de génome	<i>Aequorea victoria</i> (C1)	Insert A, GFP	Phénotype sauvage	C2	
4	Gammaherpesvirus humain 4 (virus d'Epstein Barr)	C2	Génétique inverse par transfection de BAC (carte en PJ)	cellules simiennes VERO	délétion d'un ou plusieurs gènes			Virulence réduite (perte de fonction)	C2	

¹ Les inserts de type B sont définis dans le Manuel du HCB, page 163, version du 4 juillet 2019

5	Poliovirus type 1, souche Mahoney	C2	Génétique inverse par transfection d'ARN transcrit <i>in vitro</i>	Cellules humaines HeLa	pas de modification génétique			Phénotype sauvage	C2	
6	Poliovirus type 1, souche Mahoney	C2	Génétique inverse par transfection d'ARN transcrit <i>in vitro</i>	Cellules humaines HeLa	génération à haut débit d'une collection de mutants			Large éventail de phénotypes	C2	
7	Poliovirus type 2, souche Lansing	C3	Génétique inverse par transfection d'ARN transcrit <i>in vitro</i>	Cellules humaines HeLa	une ou quelques mutations ponctuelles			Phénotype sauvage	C3	
Lignes 8-12 ci-dessous : construction de vecteurs viraux (pour vaccins, thérapie génique, transduction de gènes)										
8	HIV-1	C3	Génétique inverse	Cellules humaines 293T	substitution d'un fragment de génome	Gène chimérique	Insert A, récepteur antigénique chimérique (CAR)	Organisme non-répliquatif (replication-déficient virus)	Evaluation par le comité d'expertise	
9	Virus vaccine Ankara (MVA)	C2	Recombinaisons homologues		substitution d'un fragment de génome	SARS-CoV-2	Inserts A, Spike + nucléoprotéine	Atténuation ou perte de fonction (virulence réduite)	Evaluation par le comité d'expertise	
10	Human AAV-5	C2	Transfection de plusieurs plasmides	Cellules humaines 293T	substitution d'un fragment de génome	Homo sapiens	Insert A, mini-dystrophin	Organisme non-répliquatif (replication-déficient virus)	Evaluation par le comité d'expertise	
11	Adénovirus humain Ad26	C2	transfection de plasmides	Cellules humaines 293T, cellules canines MDCK	substitution d'un fragment de génome	Nipah virus	Insert A, glycoprotéine virale	Organisme non-répliquatif (replication-déficient virus)	Evaluation par le comité d'expertise	
12	Measles virus	C2	Transfection	Cellules humaines 293T	substitution d'un fragment de génome	SARS-CoV-2	Insert A, spike	Atténuation ou perte de fonction (virulence réduite)	Evaluation par le comité d'expertise	

Ligne 13-16 ci-dessous : bactéries et champignons génétiquement modifiées										
13	<i>Brucella melitensis</i>	C3, MOT	Echange génétique par recombinaison		substitution d'un fragment de génome	Aequorea victoria (C1)	Insert A, GFP	Phénotype sauvage	C3 MOT	
14	<i>Listeria monocytogenes</i>	C2	Transfert d'un plasmide		insertion d'un ou plusieurs transgènes	E. coli K12	Insert A, lacZ	Phénotype sauvage	C2	
15	<i>Escherichia coli K12</i>	C1	Transfert d'un plasmide		insertion d'un ou plusieurs transgènes	Bactéries de Groupe 2 ou 3	Insert B ou banque d'ADN	Production de toxines ou de protéines de fonction inconnue	C2	
16	<i>Candida albicans</i>	C2	Transfert d'un plasmide		insertion d'un ou plusieurs transgènes	<i>Aequorea victoria</i>	Insert A <i>gfp</i>	Phénotype sauvage	C2	

3.5.1 Tableau d'association pour la construction de cellules humaines ou animales génétiquement modifiées

Cellules génétiquement modifiées (= produit final de la modification), et méthodes d'obtention						Transgènes, ou gènes modifiés			
OGM final : nom de l'espèce et de la lignée originale ou type cellulaire	Type de modification génétique (choisir dans le menu)	Méthode d'obtention de l'OGM	Vecteurs utilisés pour la modification génétique	Modification stable ou transitoire	Gènes mutés, délétés ou substitués, ou précision en cas d'autre modification	Organismes donateurs de transgènes (le cas échéant), et leur classe	Types de transgènes (insert A ou B, nom des gènes, fonction)	Classe de confinement proposée	
Construction de cellules modifiées pour études de virologie									
1	Lignée MDCK (rein de chien)	ajout d'un ou plusieurs transgènes	Transfection puis sélection G418	Transfection vecteur pIRESneo-SIAT1	stable (après sélection)	human CMP-N-acetylneuraminatase beta-galactosidase α -2,6-sialyltransferase	Homo sapiens	Insert A, human SIAT1	C1
2	Lignée MDCK (rein de chien)	invalidation ou délétion ciblée (knockout) d'un ou plusieurs gènes endogènes			stable (après sélection)	Délétion ACE2	NA	NA	C1
Construction de cellules en vue de la production de vecteurs AAV									
3	<i>Homo sapiens</i> lignée HeLa	ajout d'un ou plusieurs transgènes			stable (après sélection)	Gènes <i>rep</i> et <i>cap</i> d'AAV	AAV	Inserts A : gènes <i>rep</i> et <i>cap</i> d'AAV	Evaluation par le comité d'expertise

Ajouter autant de lignes que nécessaire en recopiant les lignes ci-dessus, **incluant leurs cellules à menu déroulant**.

3.5.2 Exposition de cellules à des microorganismes

Microorganisme (bactérie, virus, ...) ou MGM auquel sont exposées les cellules						Cellule		
	Le cas échéant, correspondance dans le tableau des MGM (n° de tableau et n° de ligne)*	Nom, type et le cas échéant lignée du microorganisme	Nom du gène modifié (n° GenBank si connu)	Infectieux pour l'homme (oui/non)	Classe de confinement (si MGM) ou groupe de risque du microorganisme	Dénomination et origine (genre et espèce) de la cellule, et le cas échéant modifications génétiques	Le cas échéant, correspondance dans le tableau des cellules GM (n° de tableau et n° de ligne)*	Classe de confinement proposée suite à l'exposition
1		SARS-CoV-2	Virus wt	oui	C3	Cellule canine MDCK-hACE2		C3
2		Virus influenza H1N1	Virus wt	oui	C2	Cellules humaines A549 del-IFNAR, del-IFITM3, del-RIG-1	1.1 ligne 1 (acquisition)	C2
3	2.2 ligne 3 (ou 1.5 ligne 1 si acquisition)	Virus influenza H7N1	Insert GFP	non	C2	Cellules canines MDCK-SIAT	3.5.1 ligne 1 (ou 1.1 ligne 2 si acquisition)	C2
4		<i>Listeria monocytogenes</i>	Insert de type A (gfp)	oui	C2	Cellules humaines HeLa, Cellules murines J774		C2

*Note : remplir également les formulaires appropriés décrivant les MGM (formulaire 1, 2 ou éventuellement 3).

4.4.1 Tableau d'association pour la construction d'animaux génétiquement modifiés

Animaux génétiquement modifiés (=produit final de la modification), et méthodes d'obtention					Transgènes, ou gènes modifiés				
	Genre et espèce de l'animal transgénique	Type de modification génétique (choisir dans le menu)	Méthode d'obtention de l'OGM	Vecteurs utilisés pour la modification génétique	La modification génétique se transmet à la descendance	Gène(s) mutés, délétés ou substitués, ou précision en cas d'autre modification	Organismes donneurs de transgènes (le cas échéant), et leur classe	Types de transgènes (insert A ou B, nom des gènes, fonction)	Classe de confinement proposée
1	<i>Mus musculus</i>	ajout d'un ou plusieurs transgènes			oui	Souris tg-hACE2	<i>Homo sapiens</i>	Insert A = hACE2, C1	C1
2	<i>Mus musculus</i>	invalidation ou délétion ciblée (knockout) d'un ou plusieurs gènes endogènes			oui	Délétion myotubularin-1	NA	NA	C1
3	<i>Mus musculus</i>	ajout d'un ou plusieurs transgènes			oui	NA	<i>Homo sapiens</i>	Poliovirus receptor	C1

4.4.2 Exposition d'animaux à des microorganismes

Ce tableau inclut également l'éventualité de cellules injectées à l'animal

Microorganisme (bactérie, virus ou cellule) ou MGM auquel sont exposés les animaux						Animal éventuellement génétiquement modifié			
	Le cas échéant, correspondance dans tableau des MGM (n° de tableau et de ligne)*	Nom, type et le cas échéant lignée du microorganisme	Nom du gène modifié (n° GenBank si connu)	Infectieux pour l'homme (oui/non)	Classe de confinement (si GM) ou groupe de risque du microorganisme	Voie d'inoculation (intra-nasale, intra-veineuse, aérosol, injection stéréotaxique...)	Genre et espèce de l'animal, éventuellement génétiquement modifié	Le cas échéant, correspondance dans le tableau des animaux GM (n° de tableau et de ligne)*	Classe de confinement proposée suite à l'exposition
Lignes 1-2 : infection de souris transgéniques (huACE2, HuPV1-receptor par SARS-CoV-2 et PV1)									
1	2.2 ligne x	SARS-CoV-2	Spike modifiée	oui	C3	Intra-nasale	<i>Mus musculus</i> , tg-hACE2	4.4.1 ligne 1	C3
2		Poliovirus PV2	Virus WT	oui	C3	Orale / intra-cérébrale	<i>Mus musculus</i> , tg-PV-receptor	4.4.1 ligne 3	C3
3		Virus influenza A/turkey/Italy/977 (H7N1)	Virus chimérique avec HA H5		C3	Intra-trachéale	Poulets wt	NA	C3
Lignes 4-5 : essai préclinique d'un traitement de myopathie (myotubularin) et expériences de neurophysiologie (gène neuronal)									
4		AAV recombinant pour thérapie génique	AAV-myotubularin1-	non	C2 pour la production de l'AAV recombinant	Intra-veineuse	<i>Mus musculus</i>	Délétion myotubularin-1	C1 pour l'inoculation de l'AAV et le suivi des animaux
5		AAV recombinant	AAV-gène neuronal	non	C2 pour la production de l'AAV recombinant	Intra-cérébrale stéréotaxique	<i>Mus musculus</i>	Mutation d'un gène neuronal	C1 pour l'inoculation de l'AAV et le suivi des animaux

*Note : remplir également les formulaires appropriés décrivant les MGM (formulaire 1, 2 ou éventuellement 3).

5.4.1 Tableau d'association pour la construction de plantes transgéniques

Plantes génétiquement modifiées (=produit final de la modification), et méthodes d'obtention						Transgènes, ou gènes modifiés			
Genre et espèce de la plante GM	Type de modification génétique (choisir dans le menu)	Méthode d'obtention de l'OGM	Vecteurs utilisés pour la modification génétique	La modification génétique se transmet à la descendance	Gènes mutés, délétés ou substitués, ou précision en cas d'autre modification	Organisme donneur du transgène (le cas échéant), et sa classe	Types de transgènes (insert A ou B, nom des gènes, fonction)	Classe de confinement proposée	
1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	inactivation ou délétion ciblée (knockout) d'un ou plusieurs gènes endogènes	SDN1	SpCas9	oui	Delta-9 acyl-lipid desaturase 2 At2g31360		C2	

5.4.2 Exposition de plantes à des microorganismes

Microorganisme (bactérie, virus...) auquel sont exposées les plantes							Plantes exposées		
Le cas échéant, correspondance dans le tableau des MGM (n° de tableau et de ligne)*	Nom, type et le cas échéant lignée du microorganisme	Nom du gène modifié (n° GenBank si connu)	Infectieux pour l'homme (oui/non)	Classe de confinement (si GM) ou groupe de risque	Voie d'inoculation	Genre et espèce de la plante éventuellement génétiquement modifiée	Le cas échéant, correspondance dans le tableau des plantes GM (n° de tableau et de ligne)*	Classe de confinement proposée suite à l'exposition	
1	Tobacco rattle virus	TRV1, NC_003805.1	non	C2	Scarification	<i>Nicotiana benthamiana</i>	wt	C2	
2	Tobacco rattle virus	TRV2, Z36974.2	non	C2	Application sur la feuille	<i>Nicotiana benthamiana</i>	wt	C2	
4	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	AtDGAT1, At2g19450	non	C1	Agroinfiltration	<i>Nicotiana benthamiana</i>	wt	C2	

*Note : remplir également les formulaires appropriés décrivant les MGM (formulaire 1, 2 ou éventuellement 3).