38èmes Journées Nationales du Syndrome de Rett
PARIS 10 & 11 octobre 2026 JNSR

AFSR
Association Française du Syndrome de Rett

Entrez dans les coulisses de la thérapie génique :
de l'idée simple au chantier moléculaire périlleux

Yoann Leblay - Doctorant

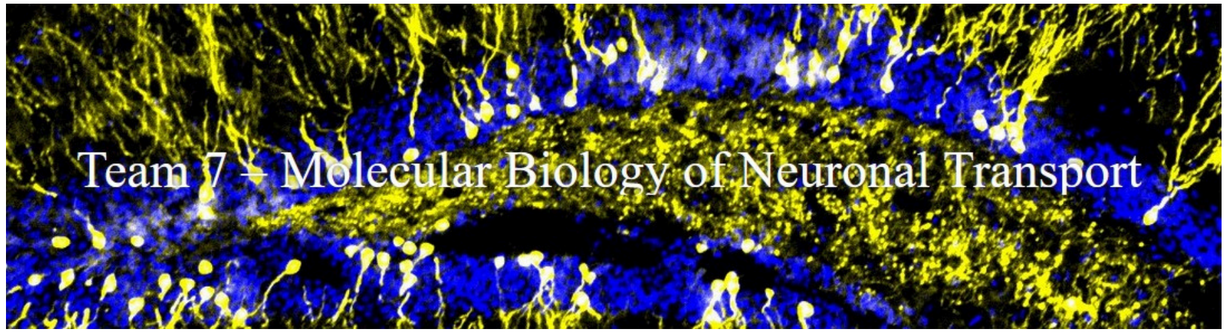
Saints-Pères Paris Institute for the Neurosciences (SPPIN)

Équipe 7 Biologie Moléculaire du Transport Neuronal

Qui sommes nous ?

SPPIN | SAINTS-PERES Paris Institute for the Neurosciences







Nicolas PANAYOTIS
Chef d'équipe



Yoann LEBLAY
Doctorant

Université Paris Cité

cnrs

Retour sur la découverte du gène coupable

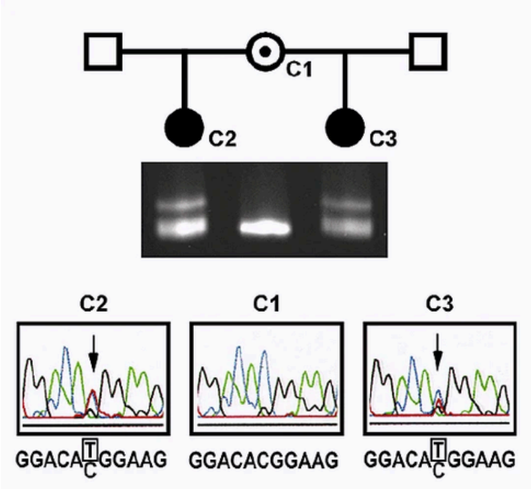
Letter | Published: October 1999

Rett syndrome is caused by mutations in X-linked *MECP2*, encoding methyl-CpG-binding protein 2

Ruthie E. Amir, Ignatia B. Van den Veyver, Mimi Wan, Charles Q. Tran, Uta Francke & Huda Y. Zoghbi

Nature Genetics **23**, 185–188 (1999) | Cite this article

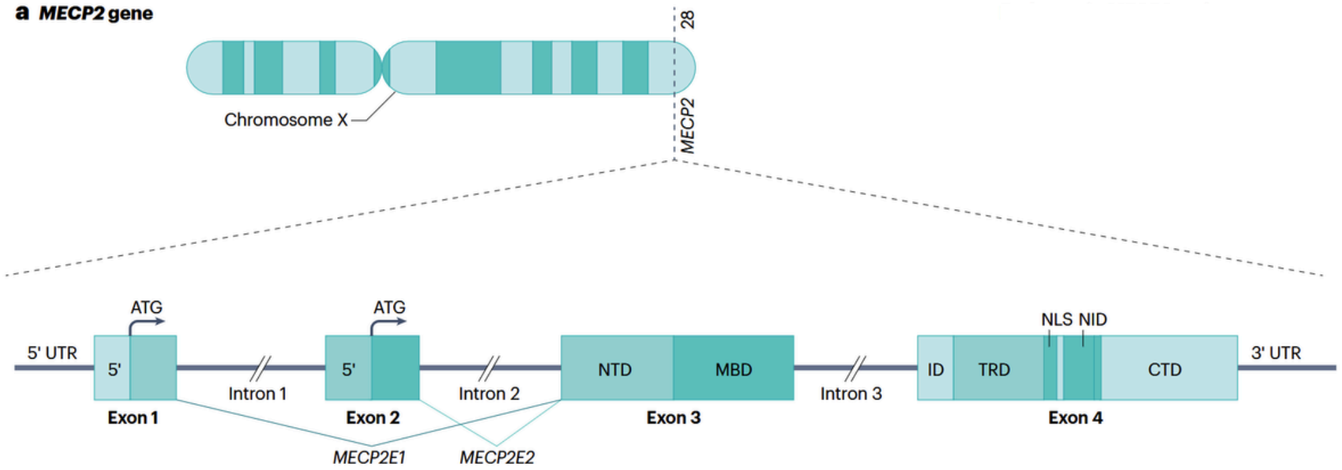




Présence d'une mutation du gène MECP2 chez deux demie-soeurs atteintes du syndrome de Rett

Amir et al., 1999 Nat Genet
doi: 10.1038/13810

Schéma du gène MECP2 humain



Gold et al., 2024 Nat Rev Dis Primers
doi: 10.1038/s41572-024-00568-0

MeCP2 : la star du show

Cell, Vol. 88, 471–481, February 21, 1997, Copyright ©1997 by Cell Press

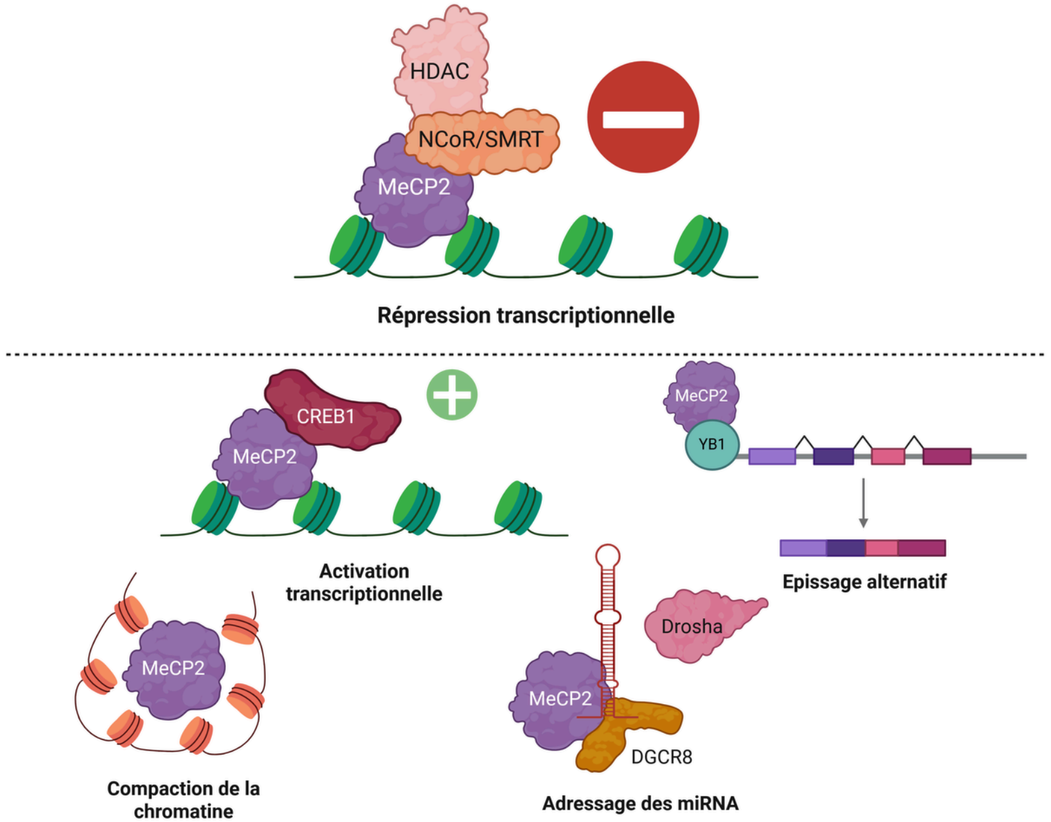
MeCP2 Is a Transcriptional Repressor with Abundant Binding Sites in Genomic Chromatin

Xinsheng Nan, F. Javier Campoy,* and Adrian Bird
Institute of Cell and Molecular Biology
University of Edinburgh
Edinburgh EH9 3JR
United Kingdom



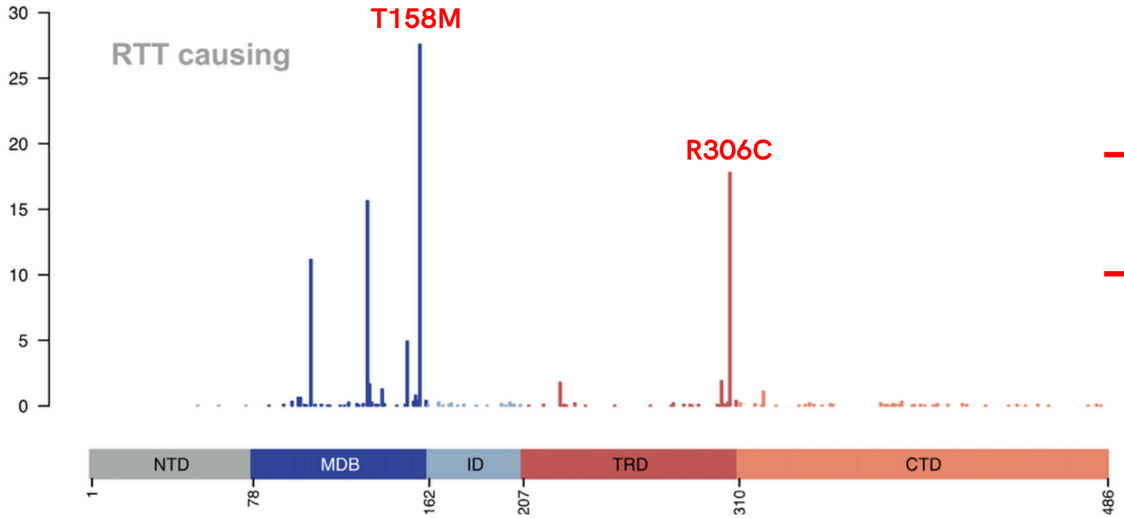
Nan et al., 1997 Cell
doi: 10.1016/S0092-8674(00)81887-5

Fonctions associées à MeCP2



De nombreuses mutations pas toutes équivalentes

Fréquence des mutations faux-sens du gène MECP2



	Age of onset	Ambulation	Autonomic symptoms	Seizures	Hand use	Head growth	Independ. sitting	Language	Nonverbal commun.	Onset of stereotypies	Respiratory dysfunction	Scoliosis	Somatic growth
Exon 1	2.6	1.1	0.5	0.5	1.9	0.7	0.5	2.7	1.4	2.0	1.3	0.4	1.2
p.Arg133Cys	2.1	1.2	0.7	0.8	1.5	1.8	0.6	3.0	1.9	1.9	1.3	0.6	0.6
p.Arg306Cys	2.1	1.5	0.6	0.5	1.7	2.0	0.5	3.0	1.9	2.0	1.5	0.6	1.0
p.Arg294X	2.2	0.9	0.7	1.2	1.6	1.9	0.4	3.0	2.0	1.7	1.5	0.8	1.5
3' Trunc	2.4	2.2	0.9	0.8	1.7	1.6	0.9	3.0	1.8	1.9	1.4	1.6	0.7
Other Point	2.4	2.1	0.8	0.9	1.9	2.0	1.0	3.1	1.7	2.1	1.3	1.3	1.0
No Mutation	2.0	2.3	1.0	1.1	1.8	2.4	1.6	3.1	2.0	1.9	1.0	1.7	1.2
p.Thr158Met	2.5	2.3	0.9	0.8	2.1	2.1	0.9	3.1	1.9	2.3	1.7	1.6	1.1
p.Arg106Trp	2.6	2.7	1.0	0.9	2.2	2.4	1.4	3.2	1.8	2.3	1.3	1.7	1.0
Deletion	2.8	3.4	0.9	0.7	2.1	2.0	1.6	3.1	2.0	2.3	1.4	1.6	1.0
Insertion	2.6	3.1	0.9	0.9	2.3	2.7	1.7	3.0	2.0	2.3	1.2	1.4	1.2
p.Arg255X	2.7	3.1	1.0	1.1	2.2	2.6	1.4	3.1	1.9	2.4	1.5	1.3	1.0
Large Del	2.5	3.1	1.0	0.8	2.4	2.5	1.5	3.2	1.8	2.3	1.6	1.6	1.1
Splice Sites	2.2	3.6	0.6	0.5	2.6	3.5	0.7	3.2	1.9	2.1	1.6	1.3	1.6
p.Arg270X	2.6	2.9	0.9	0.8	2.5	2.7	1.5	3.2	1.9	2.6	1.3	1.5	1.3
p.Arg168X	2.6	3.3	1.0	0.8	2.6	2.5	1.5	3.2	1.9	2.4	1.4	1.6	0.9

Most severe

Least severe

Ehrhart et al., 2021 Sci Data
doi: 10.1038/s41597-020-00794-7

Cuddapah et al., 2014 J Med Genet
doi: 10.1136/jmedgenet-2013-102113

Création de modèles d'étude - I

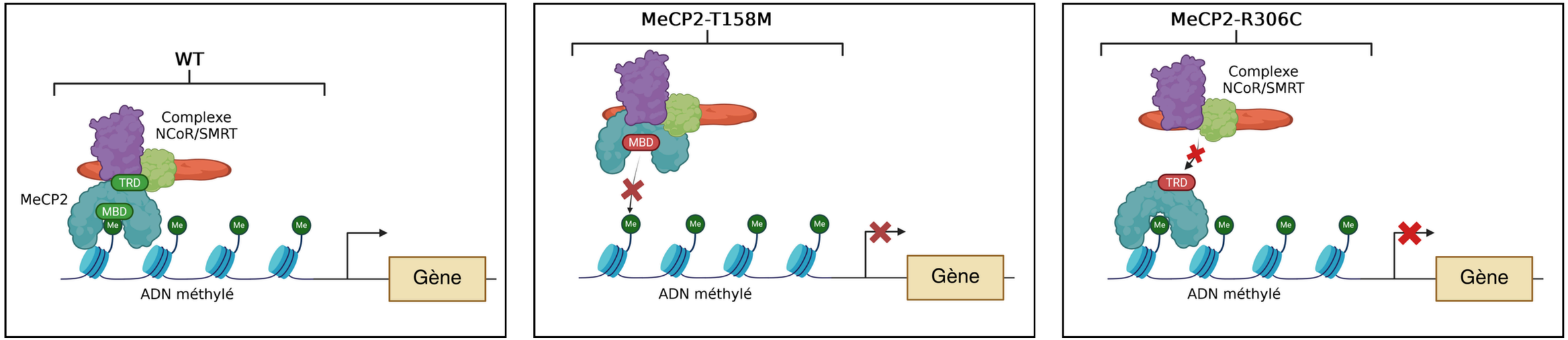
Modifier génétiquement des animaux (souris) pour en faire des 'modèles' pathologiques

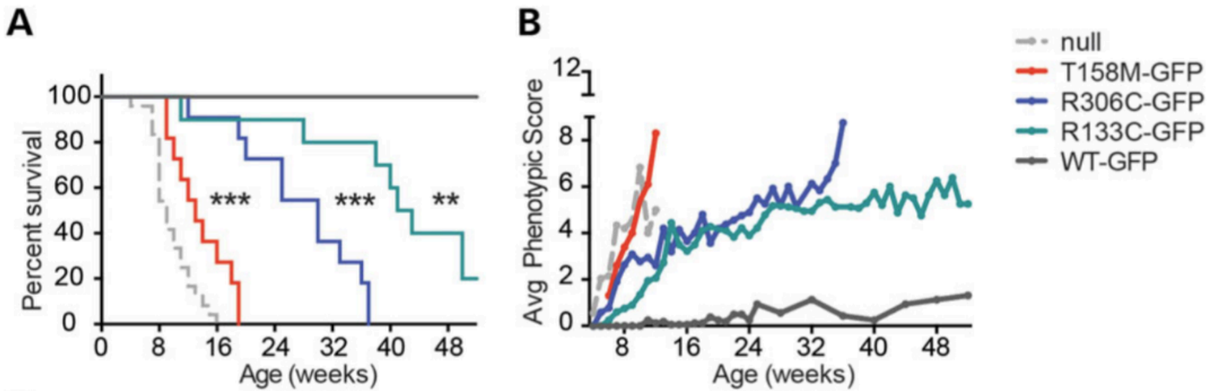
Line	Mutation	Description	Tags	Reference(s)
Mecp2$^{tm1.1Bird}$	Knockout	Cre-mediated excision of *Mecp2* exons 3 and 4	None	[140,219]
Mecp2$^{tm1.1Jae}$	Knockout	Cre-mediated excision of *Mecp2* exon 3	None	[139]
Mecp2$^{tm4.1Joez}$	R106W	Introduction of exon 3 containing R106W mutation and C-terminal Tavi tag	Tavi (C-terminal)	[157]
Tg(*MECP2**R111G/EGFP)1Hzo	R111G	Introduction of human *MECP2* gene with R111G mutation onto an autosome	EGFP (C-terminal)	[155]
Mecp2$^{tm6.1Bird}$	R133C	Introduction of exon 4 containing R133C mutation and C-terminal EGFP tag	EGFP (C-terminal)	[133]
Mecp2$^{tm1.1Vnar}$	A140V	Introduction of exon 4 containing A140V mutation	None	[156]
Mecp2$^{tm1.1Joez}$	T158A	Introduction of exon 4 containing T158A mutation	None	[158]
Mecp2$^{tm4.1Bird}$	T158M	Introduction of exon 4 containing T158M mutation and C-terminal EGFP tag	EGFP (C-terminal)	[133]
Mecp2$^{tm3.1Joez}$	T158M	Introduction of exon 4 containing T158M mutation and C-terminal Tavi tag	Tavi (C-terminal)	[157]
Mecp2$^{tm1.1Jtc}$	R168X	Introduction of exon 4 containing R168X mutation	None	[220]
Mecp2$^{tm1.1Hupp}$	R168X	Introduction of exon 4 containing R168X mutation	None	[159]
Mecp2$^{tm1.1Irsf}$	R255X	Introduction of exon 4 containing R255X mutation	None	[160]

Line	Mutation	Description	Tags	Reference(s)
Tg(*MECP2**G273X/GFP)AHzo	G273X	Introduction of exon 4 containing G273X mutation and C-terminal GFP tag	GFP (C-terminal)	[100]
Mecp2^{R294X}	R294X	CRISPR/Cas9-mediated engineering of the R294X mutation	None	[134]
Mecp2$^{tm2.1Meg}$	R306C	Introduction of exon 4 containing R306C mutation	None	[82]
Mecp2$^{tm5.1Bird}$	R306C	Introduction of exon 4 containing R306C mutation and C-terminal EGFP tag	EGFP (C-terminal)	[133]
Tg (*MECP2**R306C/EGFP)1Hzo	R306C	Introduction of human *MECP2* gene with R306C mutation and a C-terminal EGFP tag onto an autosome	EGFP (C-terminal)	[155]
Mecp2^{tm1Hzo}	T308X	Introduction of exon 4 containing T308X mutation	None	[221]
Mecp2^{L386HfsX5}	L386HfsX5	CRISPR/Cas9-mediated engineering of the L386HfsX5 mutation	None	[135]
Mecp2^{P389X}	P389X	Introduction of exon 4 containing P389X mutation	None	[135]
Mapt$^{tm1(Mecp2)Jae}$	*Mecp2* duplication	Introduction of mouse *Mecp2* cDNA sequence into exon 1 of the tau gene, in-frame with the endogenous tau start codon	None	[174,175]
Tg(*MECP2*)1Hzo	*MECP2* duplication	Introduction of human *MECP2* gene sequence onto an autosome	None	[36]

Collins and Neul, 2022 NDT
doi: 10.2147/NDT.S371483

Création de modèles d'étude - II





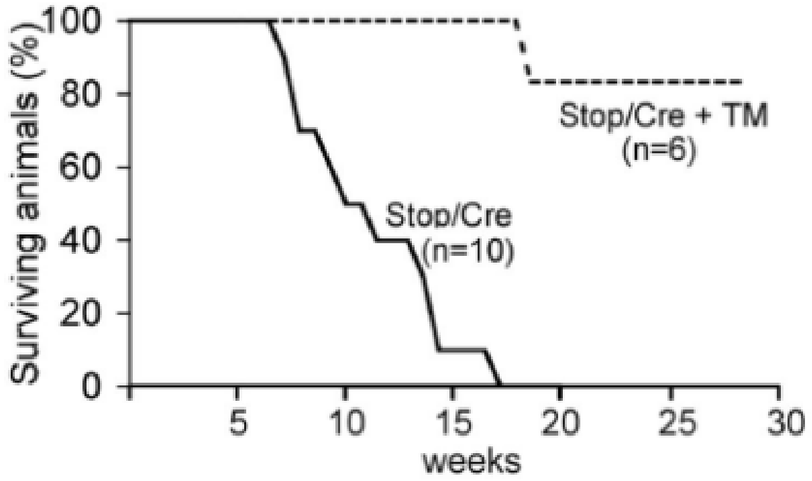
Brown et al., 2016 Hum Mol Genet
doi: 10.1093/hmg/ddv496

La naissance d'un espoir

Reversal of Neurological Defects in a Mouse Model of Rett Syndrome

JACKY GUY, JIAN GAN, JIM SELFRIDGE, STUART COBB, AND ADRIAN BIRD Authors Info & Affiliations

SCIENCE · 23 Feb 2007 · Vol 315, Issue 5815 · pp. 1143-1147 · DOI: 10.1126/science.1138389



Guy et al., 2007 Science
doi: 10.1126/science.1138389

Avant



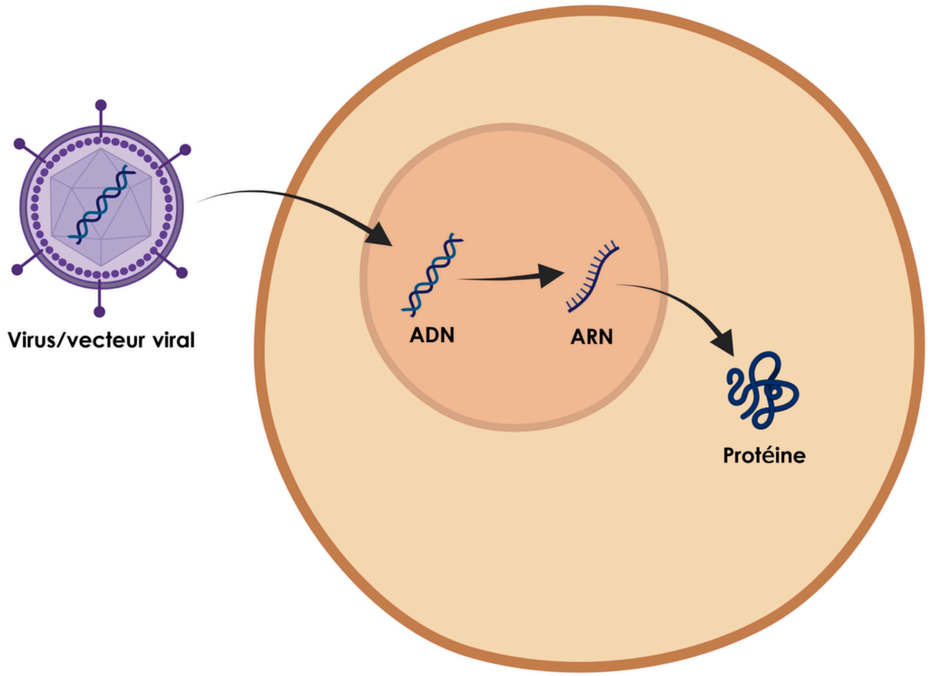
Après



Une idée simple pour soigner le syndrome de Rett…

Introduire une version ‘saine’ du gène MECP2 dans l’organisme

On ne peut pas l’introduire si facilement dans une cellule → **Il a besoin d’être protégé pour ne pas être détruit par la cellule** → **On utilise donc des virus qui entrent naturellement dans nos cellules !!**



On utilise des **virus modifiés** (AAVs) dont on **supprime les instructions nocives** de réplication et on les **remplace par le gène** (thérapeutique) que l’on souhaite introduire dans l’organisme

… qui se heurte à un véritable chantier moléculaire périlleux



Lunch atop a Skyscraper, Charles C. Ebbets, 1932

C’est malheureusement plus compliqué que prévu !

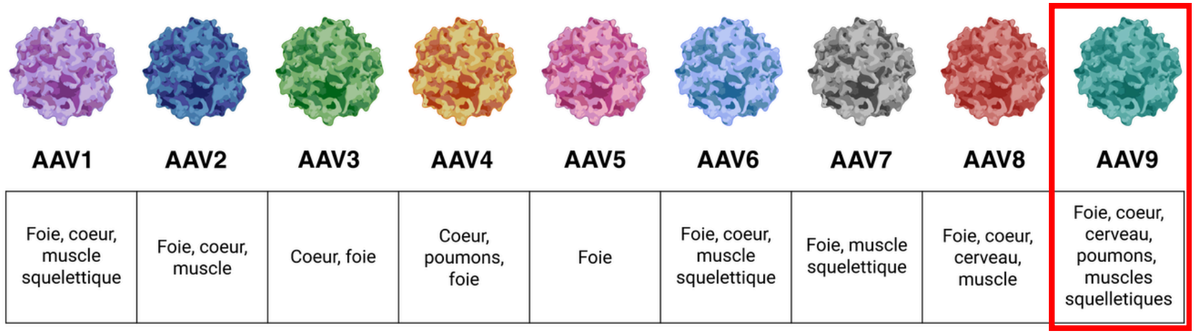
Il faut acheminer le vecteur au bon endroit (cerveau)

Eviter qu’il affecte les organes périphériques (foie)

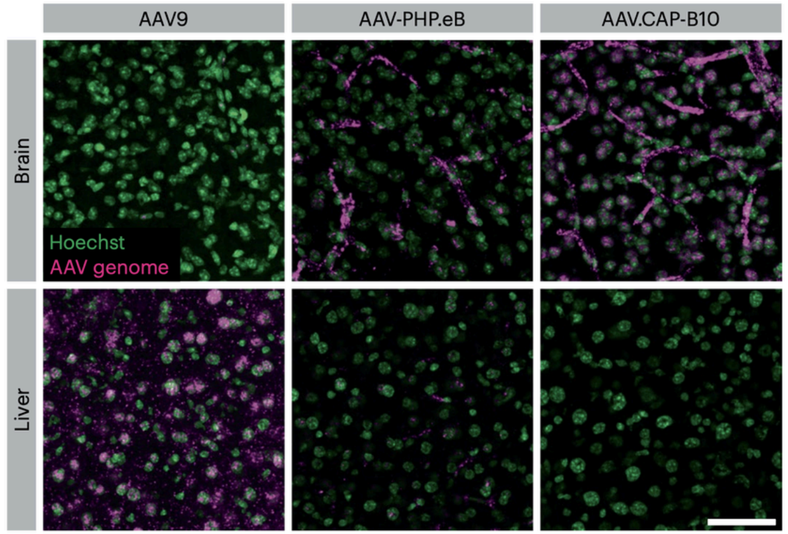
Faut que l’expression du transgène soit optimale

Au fait c'est quoi un AAV ?

AAV = virus adéno-associé (adeno-associated virus)



Sérotype	AAV1	AAV2	AAV3	AAV4	AAV5	AAV6	AAV7	AAV8	AAV9
Destination	Foie, coeur, muscle squelettique	Foie, coeur, muscle	Coeur, foie	Coeur, poumons, foie	Foie	Foie, coeur, muscle squelettique	Foie, muscle squelettique	Foie, coeur, cerveau, muscle	Foie, coeur, cerveau, poumons, muscles squelletiques



Protein/RNA-level transduction

Brain:	+	+++	+++
Liver:	+++	+	–

Coughlin et al., 2026 Nat Biotechnol
doi: 10.1038/s41587-025-02565-4

Engineered AAVs for efficient noninvasive gene delivery to the central and peripheral nervous systems

Ken Y Chan, Min J Jang, Bryan B Yoo, Alon Greenbaum, Namita Ravi, Wei-Li Wu, Luis Sánchez-Guardado, Carlos Lois, Sarkis K Mazmanian, Benjamin E Deverman & Viviana Gradinaru

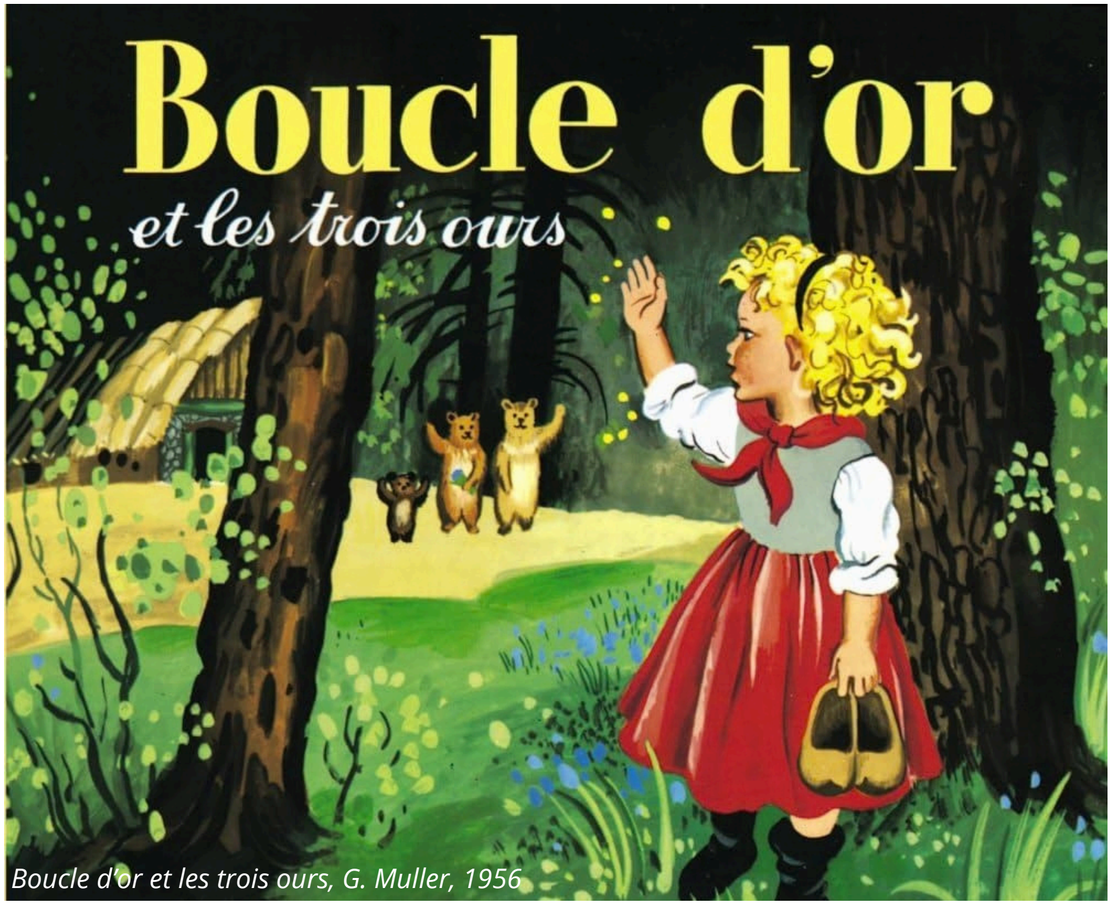
Nature Neuroscience **20**, 1172–1179 (2017) | Cite this article

AAV capsid variants with brain-wide transgene expression and decreased liver targeting after intravenous delivery in mouse and marmoset

David Goertsen, Nicholas C. Flytzanis, Nick Goeden, Miguel R. Chuapoco, Alexander Cummins, Yijing Chen, Yingying Fan, Qiangge Zhang, Jitendra Sharma, Yangyang Duan, Liping Wang, Guoping Feng, Yu Chen, Nancy Y. Ip, James Pickel & Viviana Gradinaru

Nature Neuroscience **25**, 106–115 (2022) | Cite this article

La leçon de Boucle d'Or

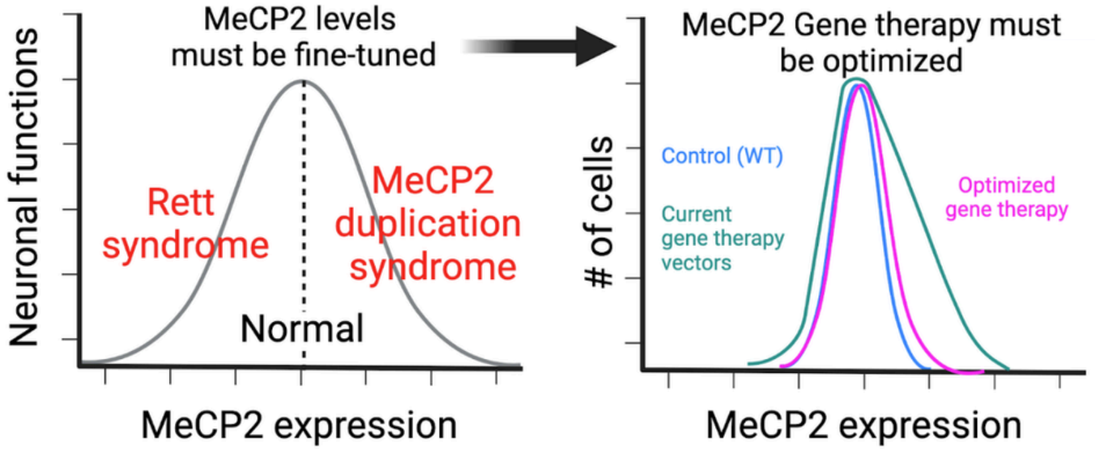


Boucle d'or et les trois ours, G. Muller, 1956

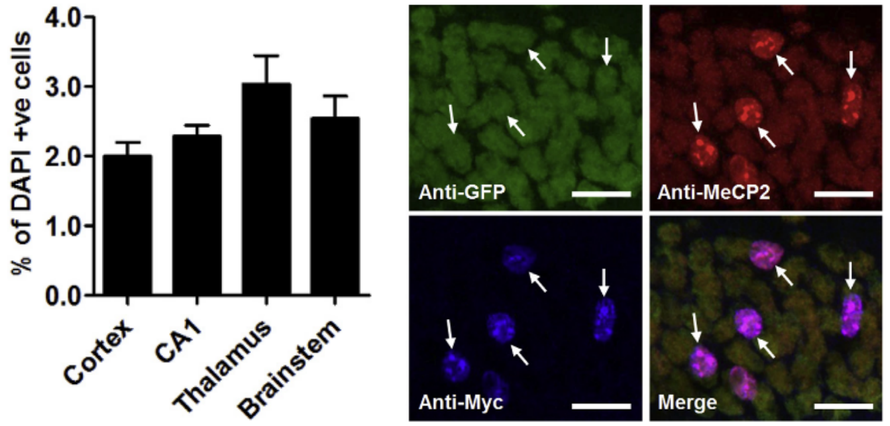
Boucle d'or déguste les bols de gruau et se régale du bol **ni trop froid, ni trop chaud**

Ni trop faible, ni trop élevée…

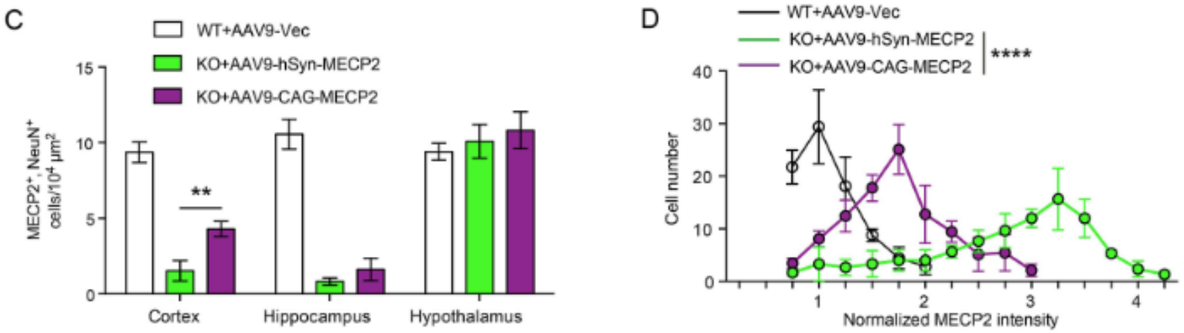
La quantité de protéine MeCP2 présente dans les cellules <u>doit être optimale</u>



Des stratégies thérapeutiques qui manquent d'optimisation

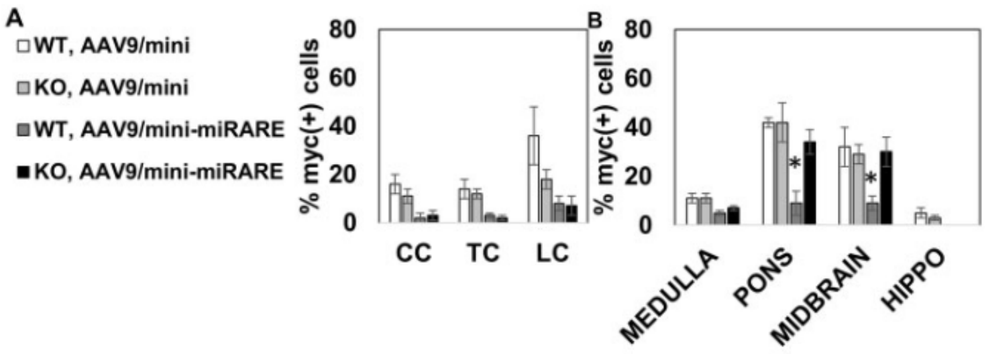


Gadalla et al., 2017 Mol Ther Methods Clin Dev
doi: 10.1016/j.omtm.2017.04.007



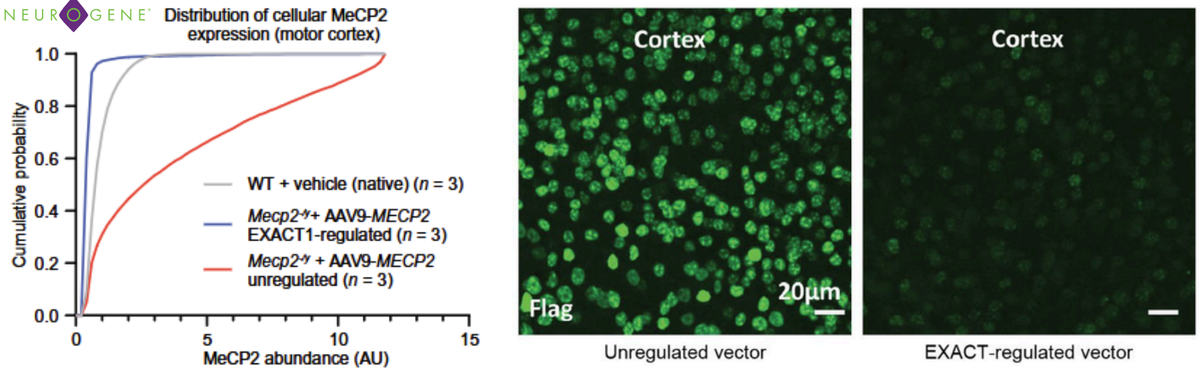
Yang et al., 2022 Neurosci Bull
doi: 10.1007/s12264-022-00974-y

Taysha GENE THERAPIES



Sinnett al., 2021 Brain
doi: 10.1093/brain/awab182

NEUROGENE

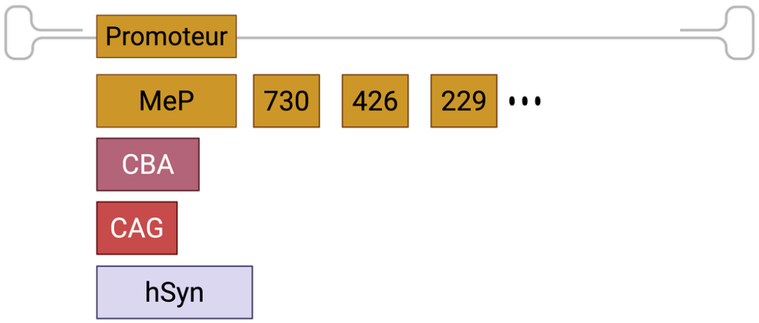


Ross et al., 2025 Sci Trans Med
doi: 10.1126/scitranslmed.adq3614

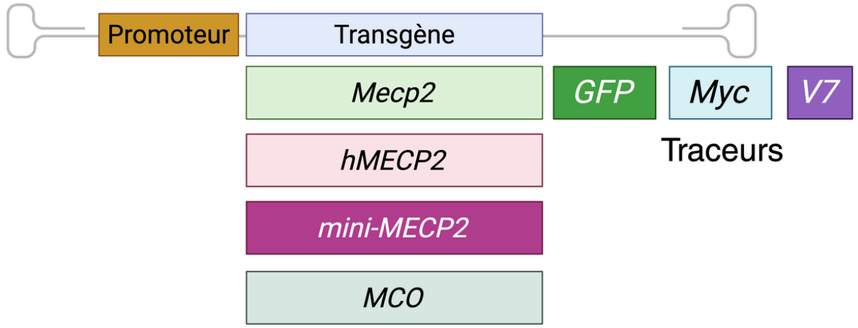
Dessine-moi un vecteur de thérapie génique

Un vecteur c'est un peu comme une phrase

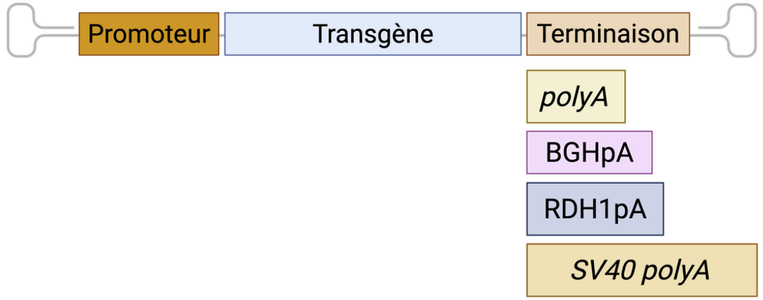
On commence par une majuscule…



Puis le contenu de la phrase…



Et on termine par un point.



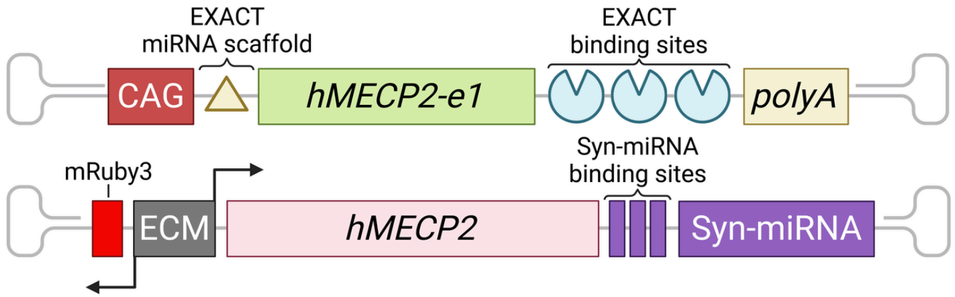
On peut faire des phrases simples





Le Petit Prince, A. de Saint-Exupéry, 1943

Ou des phrases plus élaborées…

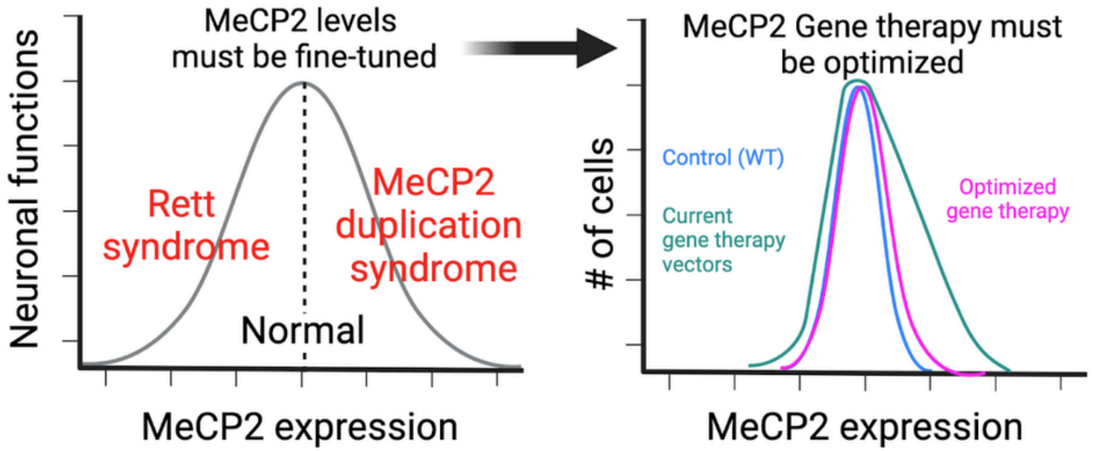


Il faut optimiser la thérapie génique, mais comment faire ?

Il faut acheminer le vecteur au bon endroit (cerveau)

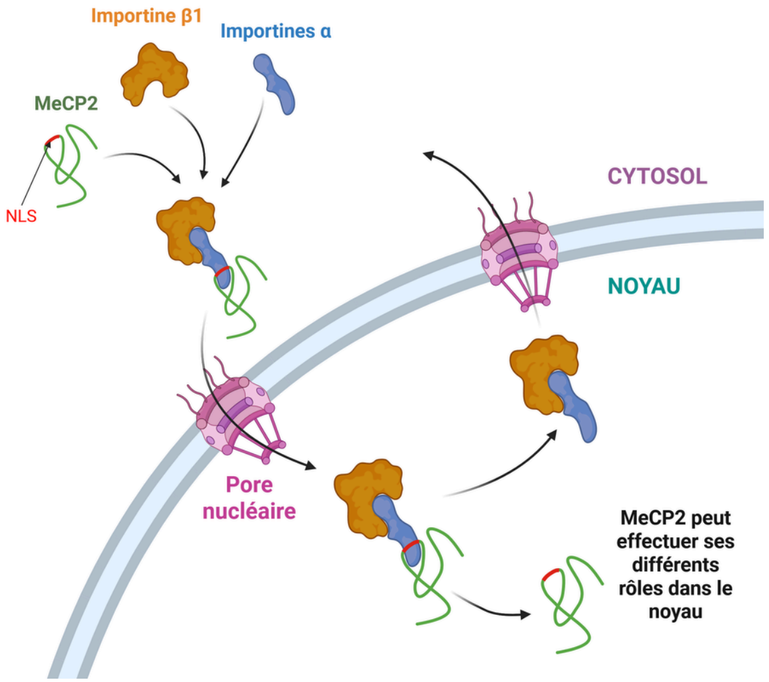
Eviter qu'il affecte les organes périphériques (foie)

Faut que l'expression du transgène soit optimale



Pour cela, deux hypothèses étudiées au laboratoire !

Hacker la machinerie cellulaire



Article

Cell Reports

Importin α5 Regulates Anxiety through MeCP2 and Sphingosine Kinase 1

NEUROSCIENCE

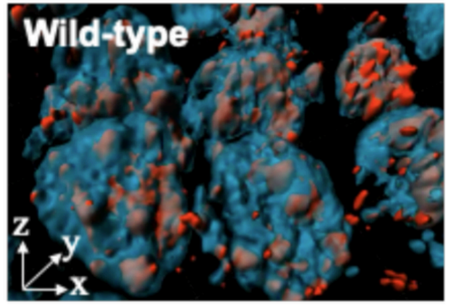
Importin α3 regulates chronic pain pathways in peripheral sensory neurons

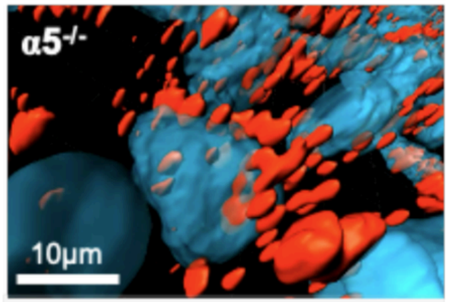
Science

SCIENCE SIGNALING | RESEARCH ARTICLE

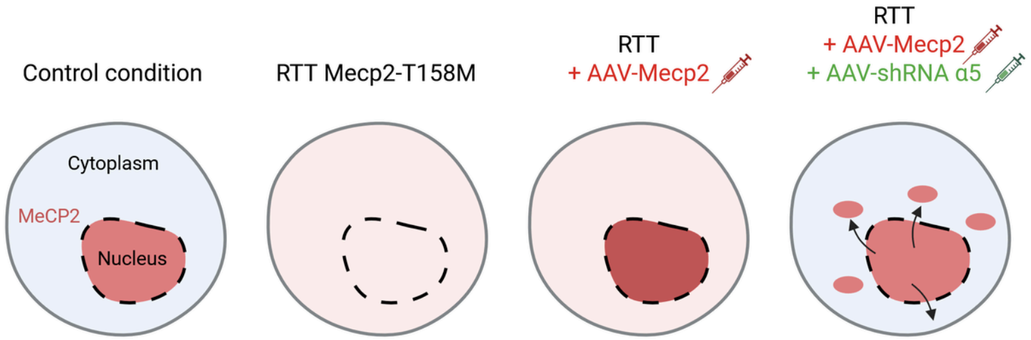
NEUROSCIENCE

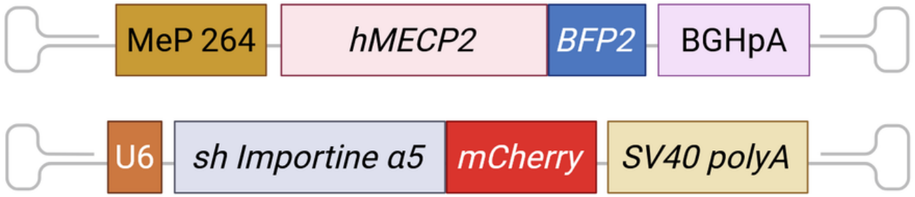
Subcellular depletion of importin β1 impairs presynaptic local translation and spatial memory





MeCP2 (neuron-specific isoform) + DAPI (nucleus)





Panayotis et al., 2018 Cell Reports
doi: 10.1016/j.celrep.2018.11.066

Marvaldi et al., 2020 Science
doi: 10.1126/science.aaz5875

Freund et al., 2026 Sci Signal
doi: 10.1126/scisignal.ady2026

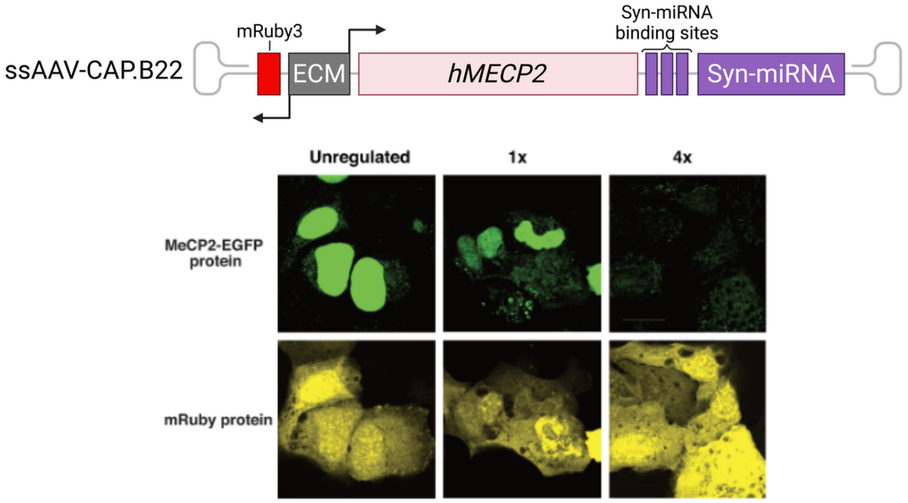
Faire confiance à un système embarqué autonome

Synthetic dosage-compensating miRNA circuits allow precision gene therapy for Rett syndrome

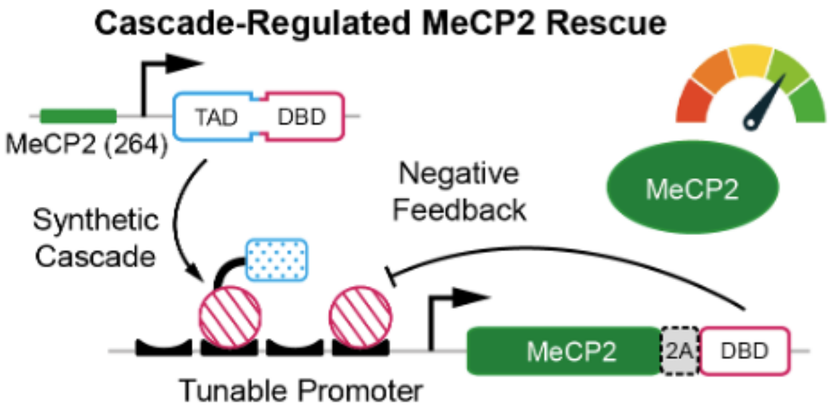
Michael J. Flynn, Acacia M.H. Mayfield, Rongrong Du, Viviana Gradinaru, Michael B. Elowitz

Molecular Cell

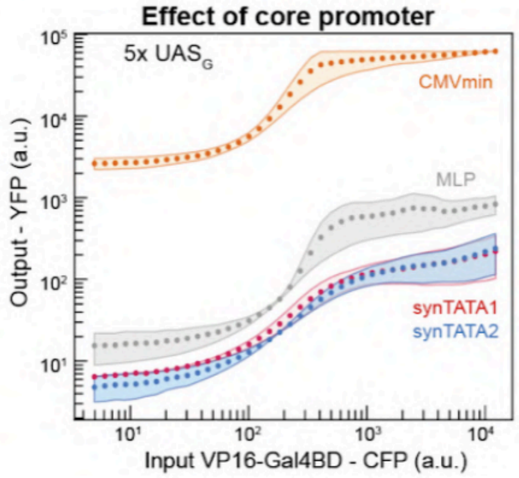
miRNA modules for precise, tunable control of gene expression

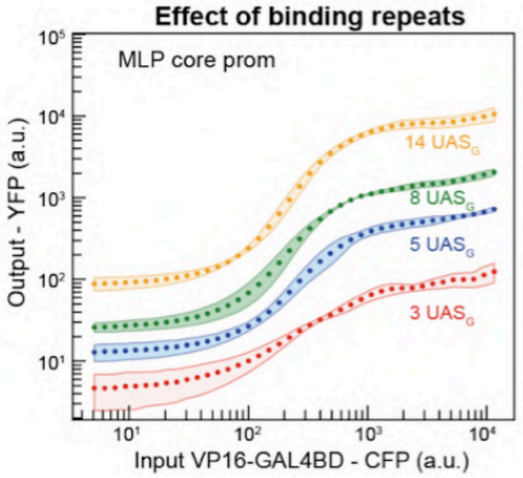






Un système simple mais efficace

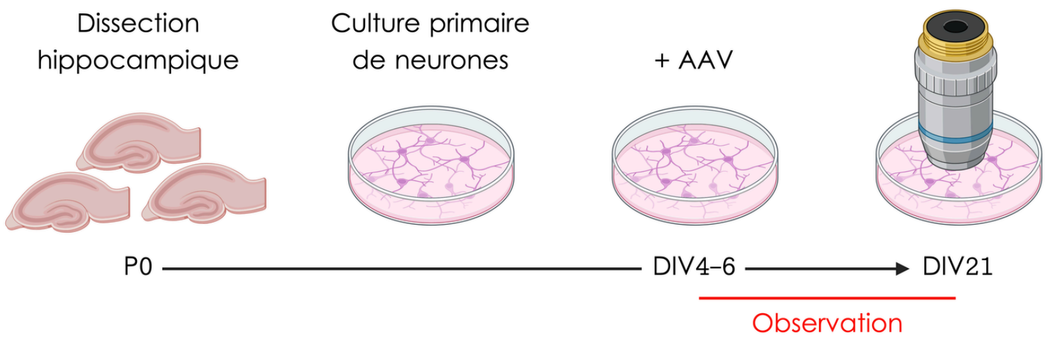




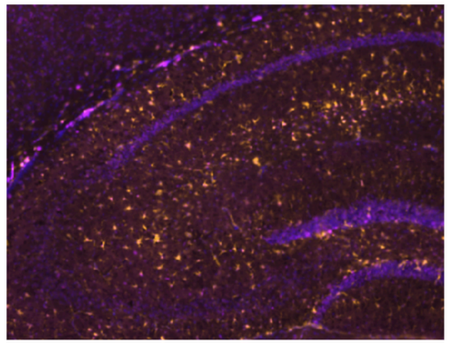
Flynn et al., 2024 bioRxiv
doi: 10.1101/2024.03.13.584179

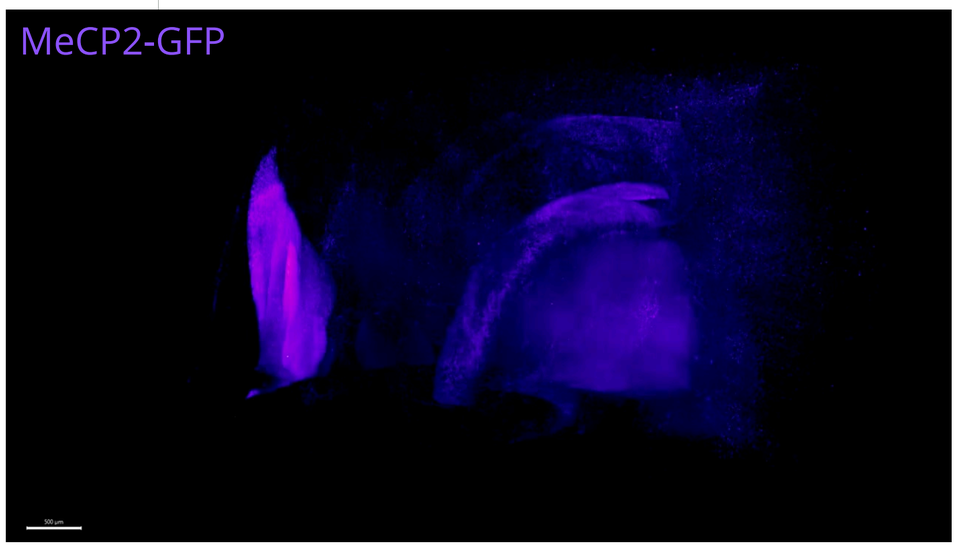
Du et al., 2026 Molecular Cell
doi: 10.1016/j.molcel.2025.11.028

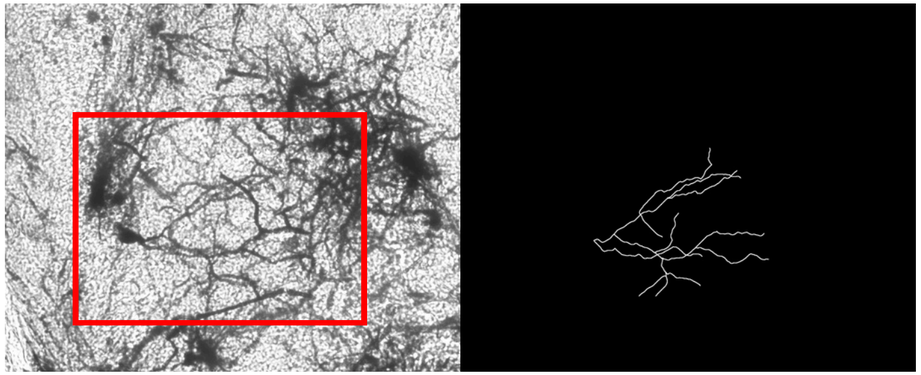
Les moyens pour évaluer l'efficacité de nos approches











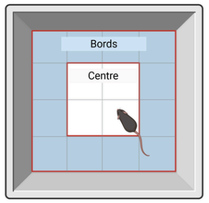
Imagerie par microscopie en feuillet de lumière d'un cerveau transparisé

Les moyens pour évaluer l'efficacité de nos approches

Score:	
0	Absent or as wild-type
1	Phenotype present
2	Phenotype present and severe

Phenotypes:

	0	1	2
Mobility	normal mobility	reduced movements	absence of voluntary movements
Gait	normal and balanced locomotion	signs of gait asymmetry	inability to perform a locomotor sequence
Hindlimb clasping	paws are extended outward	one paw is retracted inward	both paws are retracted inward
Tremor	no tremor	intermittent and moderate	continous and violent
Breathing	normal breathing	short periods of fast breathing cut by breaks	marked hypo/hyperventilation interrupted by gasps or apnea



Opend Field

↓

Exploration



Test des 3 chambres

↓

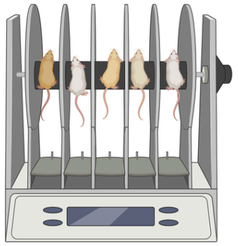
Préférence sociale



Test de la croix surélevée

↓

Anxiété



Rotarod

↓

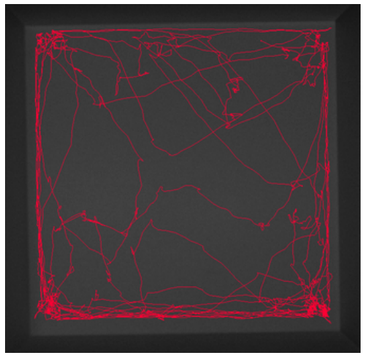
Coordination motrice

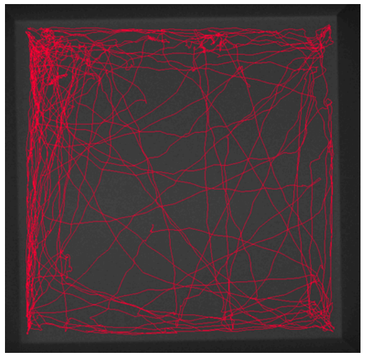


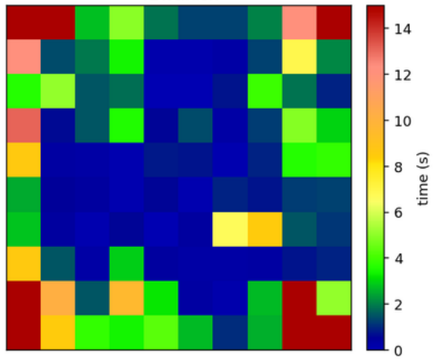
Labyrinthe de Barnes

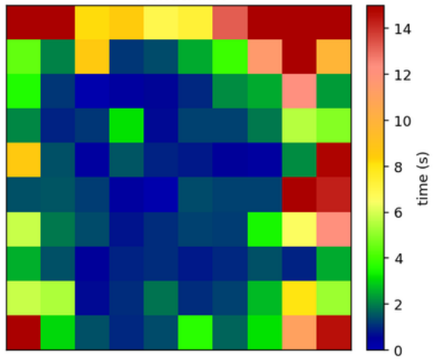
↓

Mémoire spatiale









Un grand soleil derrière les nuages

Il existe des raisons d'espérer :

La thérapie génique **évolue** de manière **impressionnante** (résultats Taysha et Neurogene)

On voit de plus en plus apparaître des **systèmes régulés et optimisés** (vs. autres maladies rares)

La **biologie synthétique** offre une perspective sans précédent pour **doser** le transgène

Des outils sont largement développés pour mieux comprendre les **effets des traitements**

Mais il faut également légitimer cet espoir :

Les **études cliniques** doivent être basées sur des données fondamentales **SOLIDES**

Utiliser des **modèles pertinents** (mutations fréquentes, souris femelles, etc)

Intégrer les **nouvelles technologies** aux processus cliniques

Investir dans la **recherche publique,** "c'est l'investissement d'une société qui croit en son futur"
Y.Belkaïd - Directrice de l'institut Pasteur

Un immense merci pour votre écoute et votre soutien !

Nos collaborateurs

SPPIN — SAINTS-PERES Paris Institute for the Neurosciences

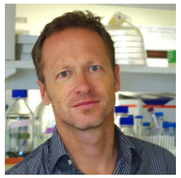

Martin **Oheim**

ENS PSL


Mathieu **Morel**


Urszula **Latosz**

Institut de Psychiatrie et Neurosciences de Paris


Zsolt **Lenkei**

WEIZMANN INSTITUTE OF SCIENCE


Philip **Freund**

Inmed — Institut de neurobiologie de la méditerranée


Jean-Christophe **Roux**

+ tous nos collègues qui aident à la réalisation de nos projets au quotidien !

Nos financeurs

AFSR — Association Française du Syndrome de Rett

anr

Fondation de France

BIOCONVS — Bioconvergence pour la Santé — Domaine de Recherche et d'Innovation Majeur

Région îledeFrance

ZEISS

Université Paris Cité

cnrs