PO-15421
Drug Design: BRAF

Comment sont conçus les médicaments de demain ?

www.atelier-drug-design.ch

FNSNF
FONDS NATIONAL SUISSE
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Chimiscope
UNIGE

SIB
Swiss Institute of
Bioinformatics

LE TEMPS

Septembre 2015

Médecine personnalisée, la révolution

> Santé Un programme a été lancé en juin aux Etats-Unis pour faire progresser les thérapies ciblées sur le profil génétique

> Les grandes pharmaceutiques, en particulier Roche et Novartis, sont à la pointe

Willy Boder

Début juillet a commencé, dans 2400 hôpitaux américains, une vaste opération de dépistage de patients atteints d'une forme ou d'une autre de cancer.

Contrairement aux études cliniques traditionnelles, l'objectif n'est pas de recruter des malades souffrant d'un même type de cancer, du sein, des poumons, ou de la prostate par exemple, pour tester l'efficacité d'un seul nouveau médicament. Il s'agit, au contraire, de rassembler les patients selon le profil génétique de leur tumeur, toutes catégories confondues.

Les médecins administreront une vingtaine de médicaments, dont certains proviennent de groupes pharmaceutiques suisses, qui sont déjà sur le marché ou encore en développement. Une patiente souffrant d'un cancer du sein avancé recevra par exemple une thérapie normalement destinée à un patient souffrant d'un cancer du poumon.

Cette nouvelle approche des programmes d'essais cliniques via le profil génétique des tumeurs et des patients, désignée par le terme «essais en corbeille» est suivie d'un œil bienveillant par la Food and Drug Administration (FDA), chargée du contrôle des médicaments aux Etats-Unis. Cette vaste étude s'intègre dans la tendance scientifique générale suivie actuellement par tous les grands groupes pharmaceutiques, à savoir rendre chaque médicament plus efficace en le modulant selon le profil génétique de la maladie dont souffre exactement tel ou tel patient.

La méthode d'essais cliniques en «corbeille», menée aux Etats-Unis sous le contrôle de l'Institut national du cancer (NCI), vise à élargir et à affiner ce qu'on appelle la médecine personnalisée, ou la médecine de précision, selon le terme utilisé par Barack Obama. Le président des Etats-Unis est persuadé de pouvoir faire progresser rapidement la recherche scientifique de cette manière et tente d'obtenir un financement par le Congrès de ces nouvelles formes de thérapie.

Joe Jimenez, patron de Novartis, deuxième entreprise au monde, derrière Roche, dans la mise à disposition de médicaments contre le cancer, estime qu'un quart des médicaments sont actuellement gaspillés de différentes manières. L'une des principales causes de ce gaspillage, qui coûte très cher aux systèmes de santé, provient du manque de connaissances scientifiques précises sur le profil génétique de telle ou telle maladie à mettre en corrélation avec l'ADN du patient. Le médecin est dès lors contraint de tester plusieurs médicaments sur un patient avant de trouver celui qui est le plus efficace.

Cette approche empirique se produit pour de très nombreuses maladies, de l'hypertension aux maladies infectieuses, en passant par des affections très graves. Pour les maladies où le pronostic vital est engagé, comme certaines formes de cancer, ce tâtonnement, synonyme de perte de temps, peut conduire à la mort.

Selon les spécialistes, la médecine de précision a aussi pour avantage de réduire les coûts de la santé. Les médicaments de ce type associés à un diagnostic (biomarqueur ou test spécifique d'ADN accompagnant le traitement) sont, certes, nettement plus chers que les produits thérapeutiques traditionnels, mais ils évitent le tâtonnement médical et la facturation aux caisses maladie de médicaments inefficaces.

> Rassembler les patients selon le profil génétique de leur tumeur, toutes catégories confondues

Le programme du NCI, qui touche 2400 hôpitaux et 1000 patients sélectionnés au sein d'un groupe de 3000 malades du cancer, est doté d'un budget de 30 à 40 millions de dollars. Le critère de succès de la thérapie sera principalement basé sur une réduction rapide de la tumeur d'au moins un tiers.

GETTY IMAGES

La médecine personnalisée combine profil génétique et médicaments thérapeutiques de manière ciblée. ARCHIVES

Depuis le premier séquençage d'un génome humain, en 2003, l'analyse des maladies, en particulier le cancer, repose de manière de plus en plus précise sur la découverte de mutations génétiques et l'activation ou la désactivation de protéines, au sein même ou à la surface des cellules. Ces mécanismes provoquent la prolifération des cellules cancéreuses dans l'organe touché, puis sous forme de métastases.

Les cancers ne sont désormais plus considérés comme différentes formes d'une même maladie, mais comme une multitude de maladies ayant des caractéristiques et un profil génétique propre. Le cancer évolue différemment selon chaque patient, ce qui entraîne, si le mécanisme génétique qui dysfonctionne peut être ciblé et corrigé, la prescription d'un médicament spécifique et une approche thérapeutique personnalisée.

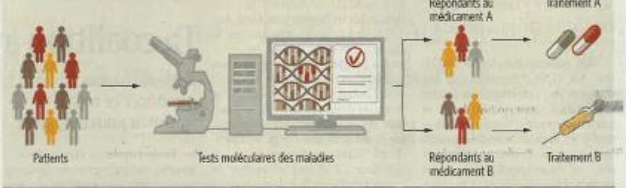
«Grâce la médecine personnalisée nous obtenons immédiatement des taux de réponse inédits aux traitements. Il y a vraiment un changement de paradigme dans ce domaine scientifique», s'enthousiasme Dietmar Berger, responsable du développement de Roche en oncologie. Il cite le cas du médicament Alectinib, contre le cancer du poumon au stade avancé, en phase d'homologation. Les métastases dans le cerveau se réduisent rapidement avec un taux de réponse jusqu'à 70% d'une durée jusqu'à onze mois.

Roche place aussi beaucoup d'espoir dans Atezolizumab, un médicament, associé à la présence de la protéine PD-L1, qui fait appel à la stimulation du système immunitaire pour détruire les cellules cancéreuses. Ce mécanisme, identique chez certains patients spécialement diagnostiqués, peut être appliqué dans la lutte contre les cancers du poumon, de la prostate, du sein et du rein. «70% de nos médicaments en phase clinique II et III en oncologie ont désormais un test diagnostic spécifique associé», constate Dietmar Berger.

«On assiste réellement à une révolution dans le traitement de ces maladies, confirme Severin Schwan, patron de Roche. Auparavant, un cancer métastasé menait le plus souvent à la mort. Aujourd'hui, dans de nombreux cas, grâce à la médecine personnalisée, on peut prolonger la vie durant des années, et peut-être guérir de ce type de cancer.»

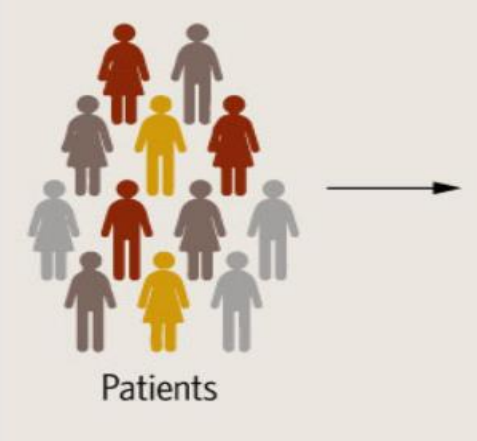
Comment ça marche

Le profil génétique du patient et de sa tumeur détermine le traitement à suivre

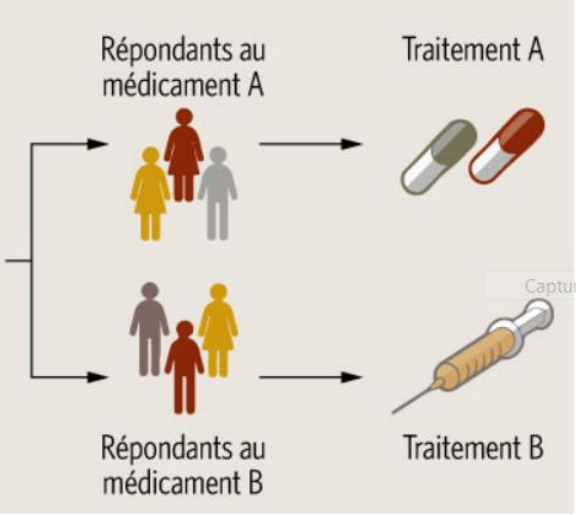


La majorité des thérapies contre le cancer à l'étude sont associées à un ou plusieurs tests génétiques développés en parallèle avec l'élaboration finale de la substance active contenue dans le médicament. Le taux d'efficacité de la thérapie, ainsi adaptée au profil précis du patient et de sa tumeur, peut dépasser 70% et augmente fortement ses chances de survie à la suite d'un cancer métastasé. SOURCE: PFIZER

une médecine qui définit les
médicaments les mieux adaptés
à chacune et à chacun
sur la base de tests diagnostiques
- biologiques et génétiques (**ADN**) -



Tests diagnostiques
(tests biologiques,
tests génétiques)



proposer le bon traitement au bon moment pour le bon groupe de patients

+ déceler à un stade précoce les risques de maladies,
afin d'éviter ou de retarder le déclenchement de la maladie
ou d'en atténuer la gravité

Image adaptée de Pfizer

Atelier BRAF

une maladie
se déclare quand...

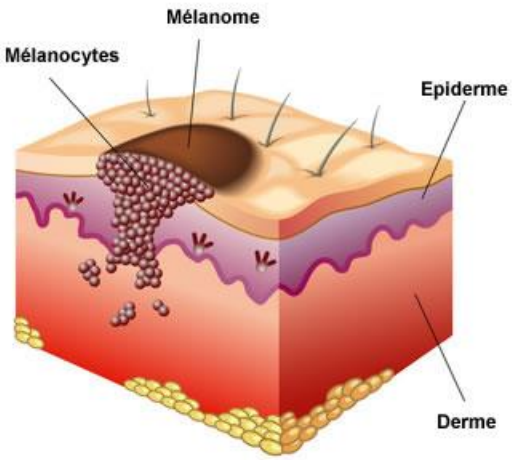
- ❑ Le site fonctionnel d'une protéine est **altéré**
- ❑ Une protéine est en **trop petite quantité**
- ❑ Une protéine est en **trop grande quantité**

Le mélanome: cancer de la peau

- Le **mélanome** est un **cancer de la peau**, conséquence de la **prolifération anormale des cellules** appelées ‘mélanocytes’.

- Les cellules de la tumeur dérivent toutes d’une cellule ‘initiatrice’ qui a acquis certaines caractéristiques lui permettant de **se diviser indéfiniment** (perte de contrôle).

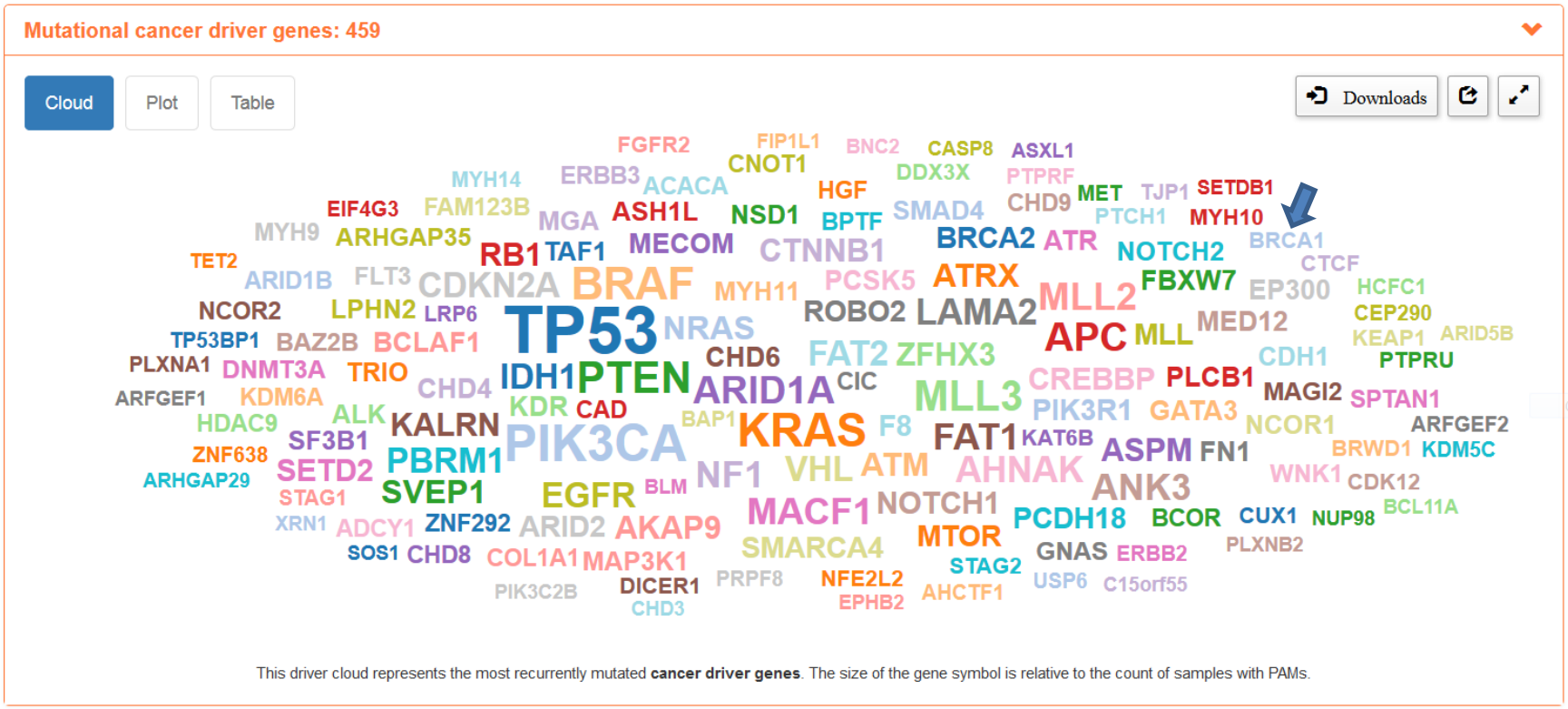
- Mutation (somatique)



Identifier la protéine à cibler:

‘Genome-Wise Association Studies’ (GWAS)
et
recherches expérimentales

des années de recherche…



https://www.intogen.org/search

459 mutational drivers (cell cycle and DNA damage, angiogenesis, apoptosis, proliferation, cell adhesion)

Analyse bioinformatique / statistique 'Genome-Wise Association Studies' (GWAS)

Résultat de la recherche bioinformatique (statistique)

Cutaneous melanoma ✖

250 mutational cancer drivers have been detected in 2 *Cutaneous melanoma* (CM) projects. The most mutated drivers are: *BRAF*, *NRAS*, *TP53*, *CDKN2A*, *PTEN*, etc.

Table 2. Genes most frequently mutated in melanoma. Data from COSMIC database, (accessed on 20 November 2011).

Gene	Frequency (%)	Gene	Frequency (%)
BRAF	45	GNAQ	8
CDKN2A	29	CTNNB1	6
NRAS	19	NF2	5
TP53	17	PDGFRA	4
PTEN	17	PIK3CA	2
STK11	10	HRAS	2
FGFR2	9	KRAS	2
KIT	8	GNA11	2

Mutational cancer driver genes: 250

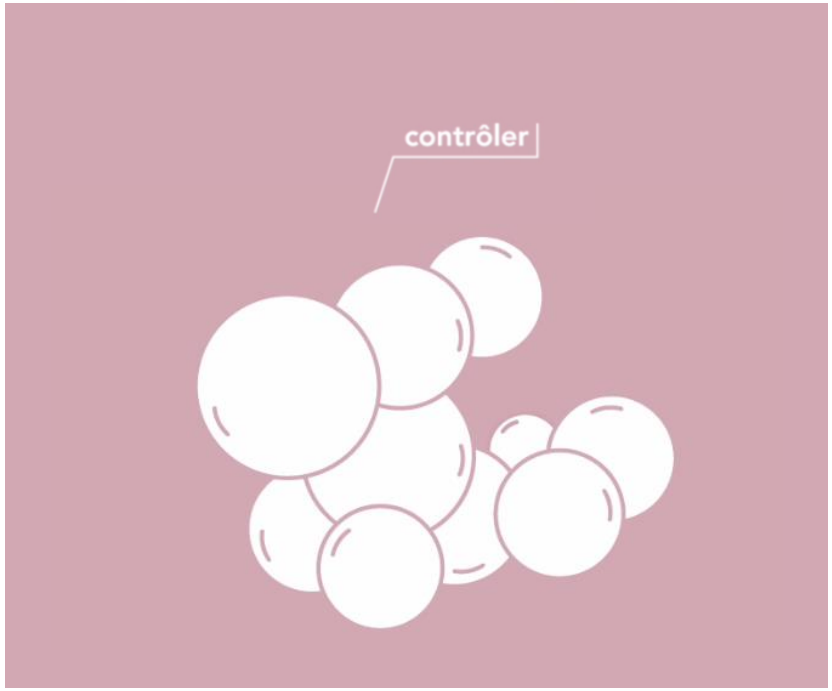
Cloud | Plot | Table

Downloads

This driver cloud represents the most recurrently mutated **cancer driver genes in Cutaneous melanoma**. The size of the gene symbol is relative to the count of samples with PAMs.

https://www.intogen.org/search?cancer=CM

Résultat de la recherche expérimentale:



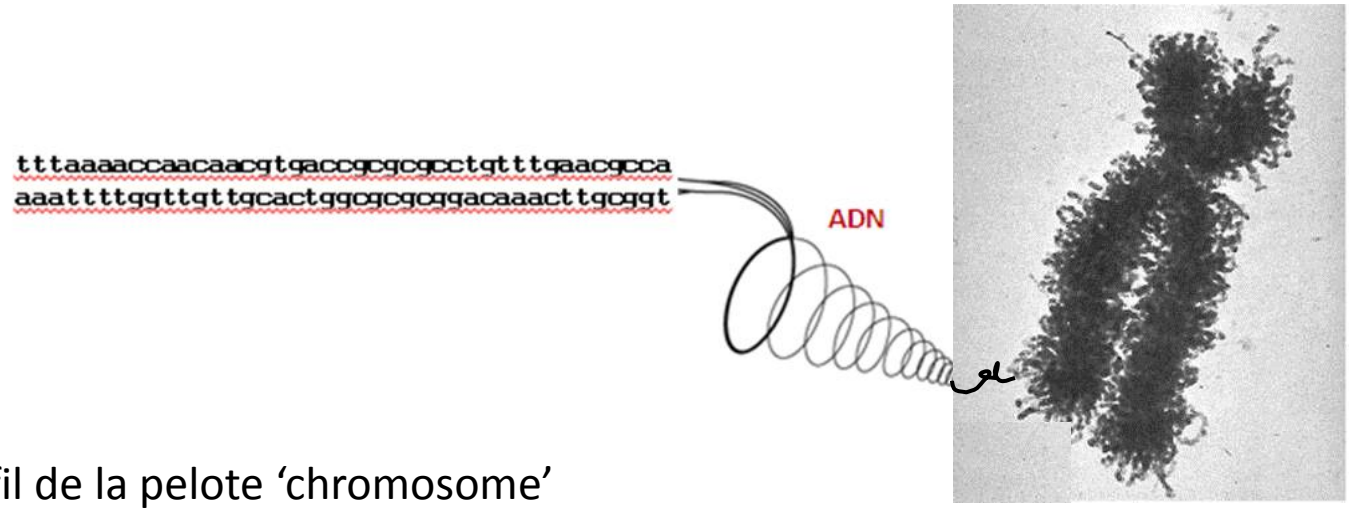
La protéine produite à partir du gène BRAF est appelée B-Raf.

Elle est impliquée dans le contrôle de la division des cellules.

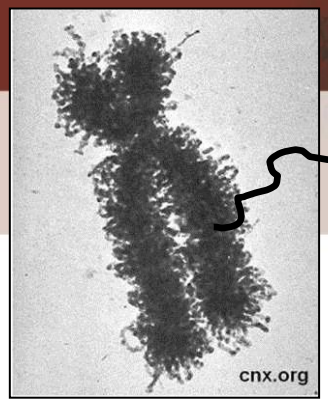
Un peu de théorie

Cellules
Chromosomes
ADN
Protéine
Mutation

- Cellules
- Chromosomes (23 x 2)
- ADN



1. L'ADN est le fil de la pelote 'chromosome'
2. L'ADN est constitué de 4 molécules appelées A, T, G, C
3. L'ADN est une double hélice (double brin): A=T, G=C



TTTTAAAAACCATGAAAATCCATACATGCGTGTACACACATGCACATGCATGCGGACGCATACATACACA
CACACACACACACACACACCCTCCTTAAAAAAGAGTTACCTAAAAGGTGCAGAGAAAATTGGATGTAT
ATTTAGGCCAGGGTGAAAACAAGATTTCTTTATGCAAATACCATATGAAAGTATAACCTGTGTAAAGGGA
GGGAGGTTGTCTCCTACTTTAAGGCTAGGAAAACTAAAAAGAGGTATTTTTGTAATAAACTAGGTTTATG
CCTTTCCTCCAAATTCCAAAATTAAATATCTTTGATTAGCTTGTCAGAGCAATAATTTTTCTCTTAAAAA
AATAAAAAAGCATCCTATCTTAAAAAGGAGCCAGAGTCAATGGAACCATGTGAATATTTGCCAAGGAAAC
TTTAGACCAAAACAAAATGTATGAGTCCAAACTTTCACACGTCAATTTTTAAAGTGAACTGAAATTATCT
TTTGTTAATGAGCTCACAATGATTCATATACTACTCTACTTTTATGTATGTTTAAAATTTTCCATAGTTG
GCCAGACATGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCATTTTGGGAGGCCAAGGCAGGCAGATCACCTGAGGT
CTGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCATCTCTATTAAAAACACAAAAATTAGCCAG
GCATGGTGGCAGGCTCCTGTCATCCTGGCTACTAGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCACTTGAACTTAGGA
GGCGGAGGTTGTAGTGAGCCAAGACTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGTGAGACTCCATCT
CAAAAAATATATATATATAAAATTCATATAATTTATACTTTATATATAATGTATATAATTTATATATAAC
ATAATTTATATACAATATATAACATATATATTATATATAACATATATATTATATATAACATATATATATT
ATATATAACATATATAATTTATATATATTATATATATAAAAGTTTCCATAGTAAAAAGTTTTTTAAAAAA
ACAGTTGTTCTAAAATTTAGGTGGTCATCAAAATTGTTATATGTTTAATTCTTTGAGATAGTACATTAAT
TTGGTAGTTTGTTTTACAGTGCAGACGATTATATGCCTTAAGTAAGCTTCATGATACAGTAACATCTTAA
ATAAACTGGCACAGAATATACATGCCAATATACAGATTTTGAATACAAATTTAAATTACATAGCTTTCTG
ATTTTATAATTTAACTTAATGCCAAGTTCTTTTTTGGGACTATTACATCAATTACATTTTTTTTTTTTTT
TTGAGACAGAGTCTCGCTCTGTCGCCCAGGCTGCAGTGCAGTGGCGTGATCTCAGCTCACTGCAAGCTCC
ACCTCCCGGGCTCACGCCATTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACTACAGGTGTCTGCCACCA
CGCCTGGCTAATTTTGTTTTTTTTTGTATTTTTAGTAGAGACGGGGTTTCTCCTTGTTAGCCAAGATGGT
CTCGATCTCCTGACCTCATGATTCGCCCGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTAGGATTACAGGTGTGAGCCAT
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGACAGGGTCTTGCTCTGCCACCCAGGCTTGTGCAATGGTGCGACCTAG
AATCACTGCAAACTCCACTTCACAGGTTCAAGGGATTCTCATGCCTCAGCTTCCAGAGCAGCTGGGATTA
CAGGCATGTGCCAGCAAGCCCGGCTAATTTTTTTGTATTGTTAGTAAAGACGGGGTTTTAGTATGTTCCT
CAGGCTGGTCTCGAACTCCTTACCTCAAGTGACCCGCCTGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAG
GTGTGAGCCACTGCAACTGGCCTAATTACAATATTGTTTTAAAGAAAAAAAAATTGTTATGATCTGCTTA

Le gène BRAF

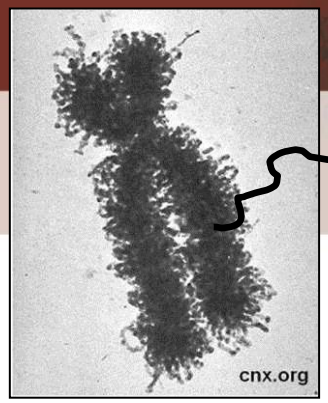
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/568815591?report=fasta

Séquence ADN du chromosome 7

(GenBank database; 159’345’973 bp)

Un peu de bioinformatique

SIB
Swiss Institute of Bioinformatics



TTTTAAAAACCATGAAAATCCATACATGCGTGTACACACATGCACATGCATGCGGACGCATACATACACA
CACACACACACACACACACCCTCCTTAAAAAAGAGTTACCTAAAAGGTGCAGAGAAAATTGGATGTAT
ATTTAGGCCAGGGTGAAAACAAGATTTCTTTATGCAAATACCATATGAAAGTATAACCTGTGTAAAGGGA
GGGAGGTTGTCTCCTACTTTAAGGCTAGGAAAACTAAAAAGAGGTATTTTTGTAATAAACTAGGTTTATG
CCTTTCCTCCAAATTCCAAAATTAAATATCTTTGATTAGCTTGTCAGAGCAATAATTTTTCTCTTAAAAA
AATAAAAAAGCATCCTATCTTAAAAAGGAGCCAGAGTCAATGGAACCATGTGAATATTTGCCAAGGAAAC
TTTAGACCAAAACAAAATGTATGAGTCCAAACTTTCACACGTCAATTTTTAAAGTGAACTGAAATTATCT
TTTGTTAATGAGCTCACAATGATTCATATACTACTCTACTTTTATGTATGTTTAAAATTTTCCATAGTTG
GCCAGACATGGTGGCTCATGCCTGTAATCCCAGCATTTTGGGAGGCCAAGGCAGGCAGATCACCTGAGGT
CTGGAGTTCAAGACCAGCCTGGCCAACATGGTGAAACCCCATCTCTATTAAAAACACAAAAATTAGCCAG
GCATGGTGGCAGGCTCCTGTCATCCTGGCTACTAGGGAGGCTGAGGCAGGAGAATCACTTGAACTTAGGA
GGCGGAGGTTGTAGTGAGCCAAGACTGTGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGAGTGAGACTCCATCT
CAAAAAATATATATATATAAAATTCATATAATTTATACTTTATATATAATGTATATAATTTATATATAAC
ATAATTTATATACAATATATAACATATATATTATATATAACATATATATTATATATAACATATATATATT
ATATATAACATATATAATTTATATATATTATATATATAAAAGTTTCCATAGTAAAAAGTTTTTTAAAAAA
ACAGTTGTTCTAAAATTTAGGTGGTCATCAAAATTGTTATATGTTTAATTCTTTGAGATAGTACATTAAT
TTGGTAGTTTGTTTTACAGTGCAGACGATTATATGCCTTAAGTAAGCTTCATGATACAGTAACATCTTAA
ATAAACTGGCACAGAATATACATGCCAATATACAGATTTTGAATACAAATTTAAATTACATAGCTTTCTG
ATTTTATAATTTAACTTAATGCCAAGTTCTTTTTTGTGACTATTACATCAATTACATTTTTTTTTTTTTT
TTGAGACAGAGTCTCGCTCTGTCGCCCAGGCTGCAGTGCAGTGGCGTGATCTCAGCTCACTGCAAGCTCC
ACCTCCCGGGCTCACGCCATTCTCCTGCCTCAGCCTCCTGAGTAGCTGGGACTACAGGTGTCTGCCACCA
CGCCTGGCTAATTTTGTTTTTTTTTGTATTTTTAGTAGAGACGGGGTTTCTCCTTGTTAGCCAAGATGGT
CTCGATCTCCTGACCTCATGATTCGCCCGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTAGGATTACAGGTGTGAGCCAT
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGACAGGGTCTTGCTCTGCCACCCAGGCTTGTGCAATGGTGCGACCTAG
AATCACTGCAAACTCCACTTCACAGGTTCAAGGGATTCTCATGCCTCAGCTTCCAGAGCAGCTGGGATTA
CAGGCATGTGCCAGCAAGCCCGGCTAATTTTTTTGTATTGTTAGTAAAGACGGGGTTTTAGTATGTTCCT
CAGGCTGGTCTCGAACTCCTTACCTCAAGTGACCCGCCTGCCTCAGCCTCCCAAAGTGCTGGGATTACAG
GTGTGAGCCACTGCAACTGGCCTAATTACAATATTGTTTTAAAGAAAAAAAAATTGTTATGATCTGCTTA

Le gène BRAF
Une variation génétique
T -> A

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/568815591?report=fasta

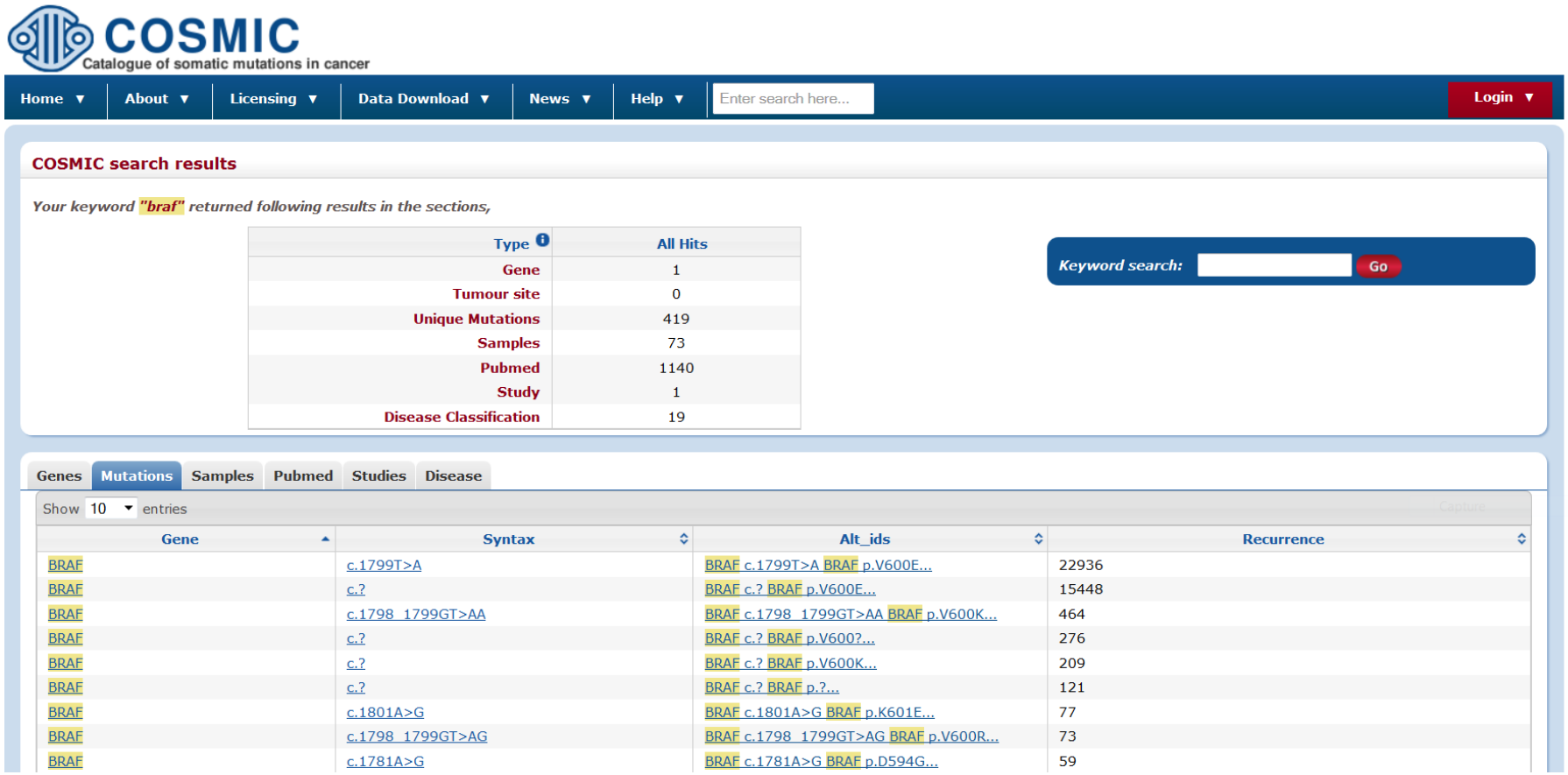
Séquence ADN du chromosome 7

(GenBank database; 159’345’973 bp)

Un peu de bioinformatique

SIB
Swiss Institute of Bioinformatics

http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/search?q=braf



Question

Est-ce que la séquence ADN du gène BRAF du mélanome de Mme X est ‘mutée’ ?

Un peu de bioinformatique

```
>1_normal
gtttgaactaggtgattttggtctagctacagtgaaatctcgatggagtgggtcccat

>2_normal
gtttgaactaggtgattttggtctagctacagtgaaatctcgatggagtgggtcccat

>MmeX_normal
gtttgaaataggtgattttggtctagctacagtgaaatctcgatggagtgggtcccat


>1_melanome
gtttgaactaggtgattttggtctagctacagagaaatctcgatggagtgggtcccat

>2_melanome
gtttgaaataggtgattttggtctagctacagagaaatctcgatggagtgggtcccat

>MmeX_melanome
gtttgaaataggtgattttggtctagctacagagaaatctcgatggagtgggtcccat
```

http://www.uniprot.org/align/
http://www.ch.embnet.org/software/ClustalW.html

Un peu de bioinformatique

```
1_normal          GTTTGAACTAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
2_normal          GTTTGAACTAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
MmeX_normal       GTTTGAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
1_melanome        GTTTGAACTAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGAGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
2_melanome        GTTTGAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGAGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
MmeX_melanome     GTTTGAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGAGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
                  ******* ************************** **************************
```

Un peu de bioinformatique

Cette variation n'est pas associée avec le mélanome ('neutre')

```
1_normal          GTTTGAACTAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
2_normal          GTTTGAACTAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
MmeX_normal       GTTTGAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
1_melanome        GTTTGAACTAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGAGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
2_melanome        GTTTGAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGAGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
MmeX_melanome     GTTTGAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGAGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
                  ******* ************************** **************************
```

Cette variation est systématiquement retrouvée dans les cellules du mélanome

Question

Est-ce que la mutation identifiée dans l'ADN du gène BRAF du mélanome modifie la séquence en acide aminé de la protéine B-Raf ?

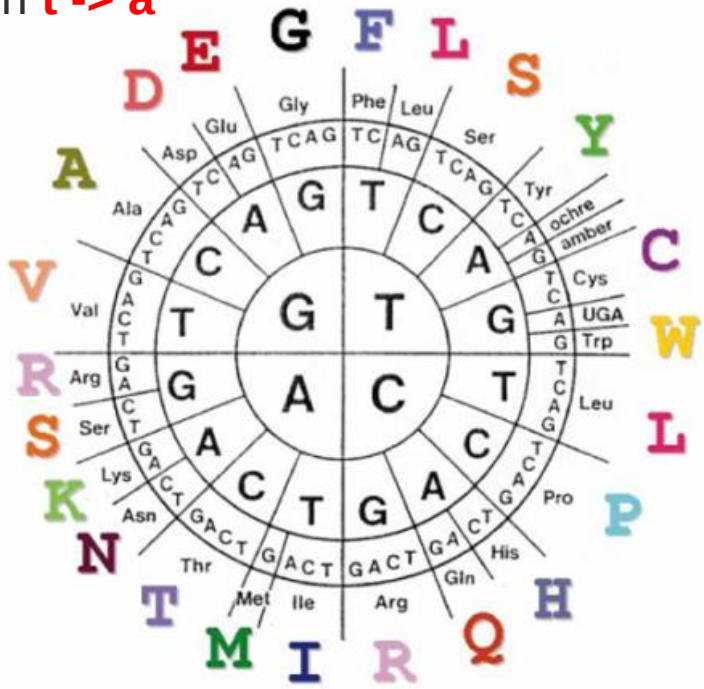
```
1_normal          GTTTGAACTAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
2_normal          GTTTGAACTAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
MmeX_normal       GTTTGAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
1_melanome        GTTTGAACTAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGAGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
2_melanome        GTTTGAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGAGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
MmeX_melanome     GTTTGAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGAGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCAT
                  ******* ************************ ************************
```

- Séquence ADN du gène BRAF 'normal'.

  gct aca g**t**g aaa

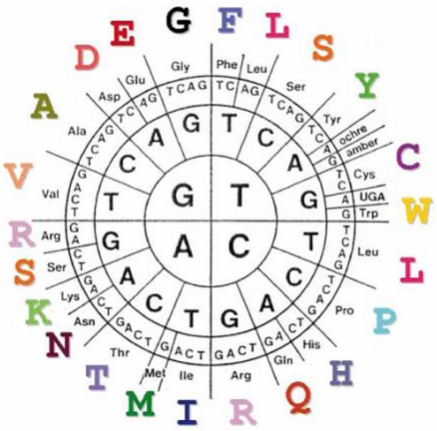
- Séquence ADN du gène BRAF avec la mutation **t -> a**

  gct aca g**a**g aaa



ADN
Gène BRAF

…ggt gat ttt ggt cta gct aca gtg aaa tct cga tgg…

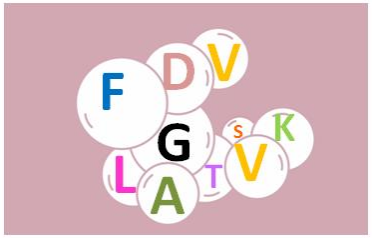


Code génétique

Protéine
B-Raf

… G D F G L A T V K S R W …

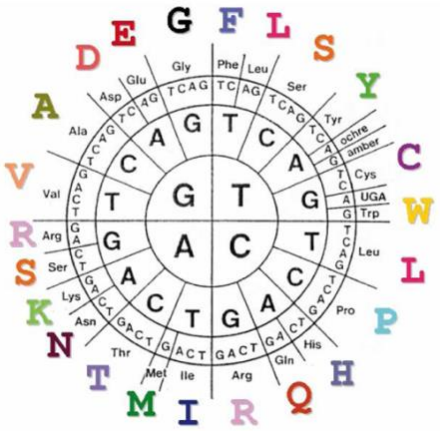
un acide aminé
Il existe 20 acides aminés différents



Mutation

ADN
Gène BRAF

…ggt gat ttt ggt cta gct aca gag aaa tct cga tgg…

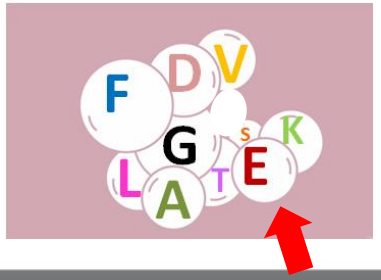


Code génétique

Protéine
B-Raf

… G D F G L A T E K S R W …

Mutation



Séquence en acide aminé de la protéine B-Raf (766 acides aminés)

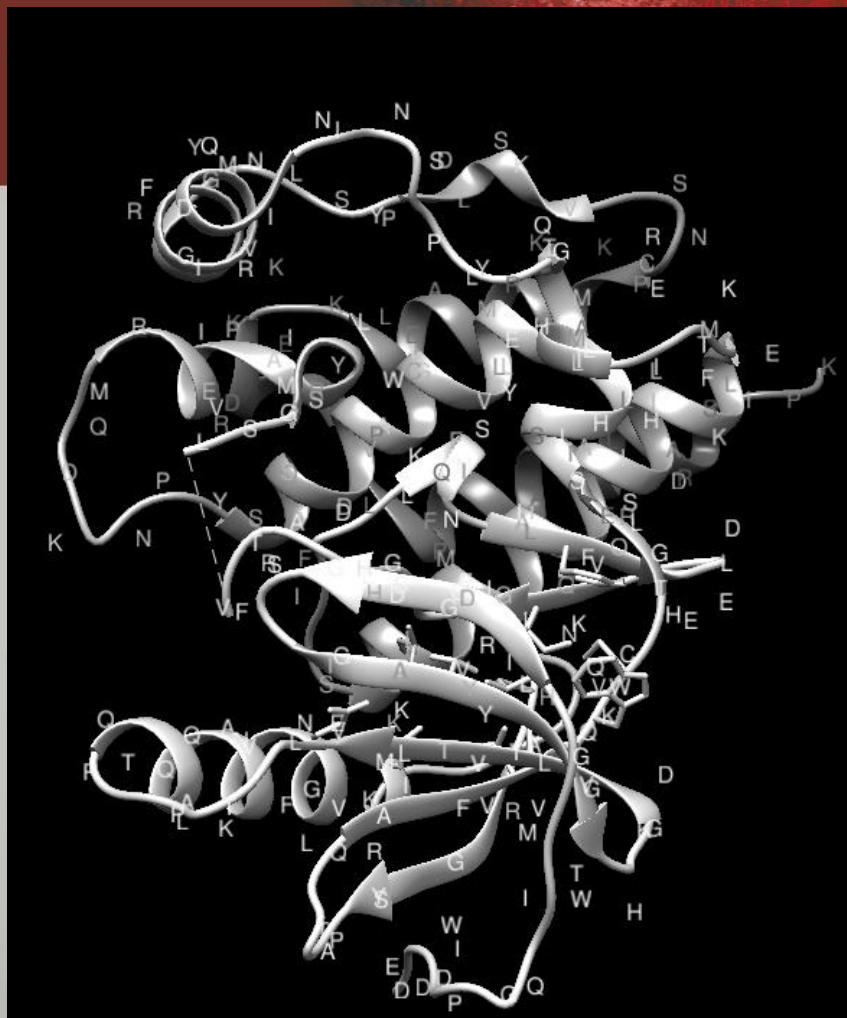
MAALSGGGGGGAEPGQALFNGDMEPEAGAGAGAAASSAADPAIPEEVWNIKQMIKLTQEH
IEALLDKFGGEHNPPSIYLEAYEEYTSKLDALQQREQQLLESLGNGTDFSVSSSASMDTV
TSSSSSSLSVLPSSLSVFQNPTDVARSNPKSPQKPIVRVFLPNKQRTVVPARCGVTVRDS
LKKALMMRGLIPECCAVYRIQDGEKKPIGWDTDISWLTGEELHVEVLENVPLTTHNFVRK
TFFTLAFCDFCRKLLFQGFRCQTCGYKFHQRCSTEVPLMCVNYDQLDLLFVSKFFEHHPI
PQEEASLAETALTSGSSPSAPASDSIGPQILTSPSPSKSIPIPQPFRPADEDHRNQFGQR
DRSSSAPNVHINTIEPVNIDDLIRDQGFRGDGGSTTGLSATPPASLPGSLTNVKALQKSP
GPQRERKSSSSSEDRNRMKTLGRRDSSDDWEIPDGQITVGQRIGSGSFGTVYKGKWHGDV
AVKMLNVTAPTPQQLQAFKNEVGVLRKTRHVNILLFMGYSTKPQLAIVTQWCEGSSLYHH
LHIIETKFEMIKLIDIARQTAQGMDYLHAKSIIHRDLKSNNIFLHEDLTVKIGDFGL

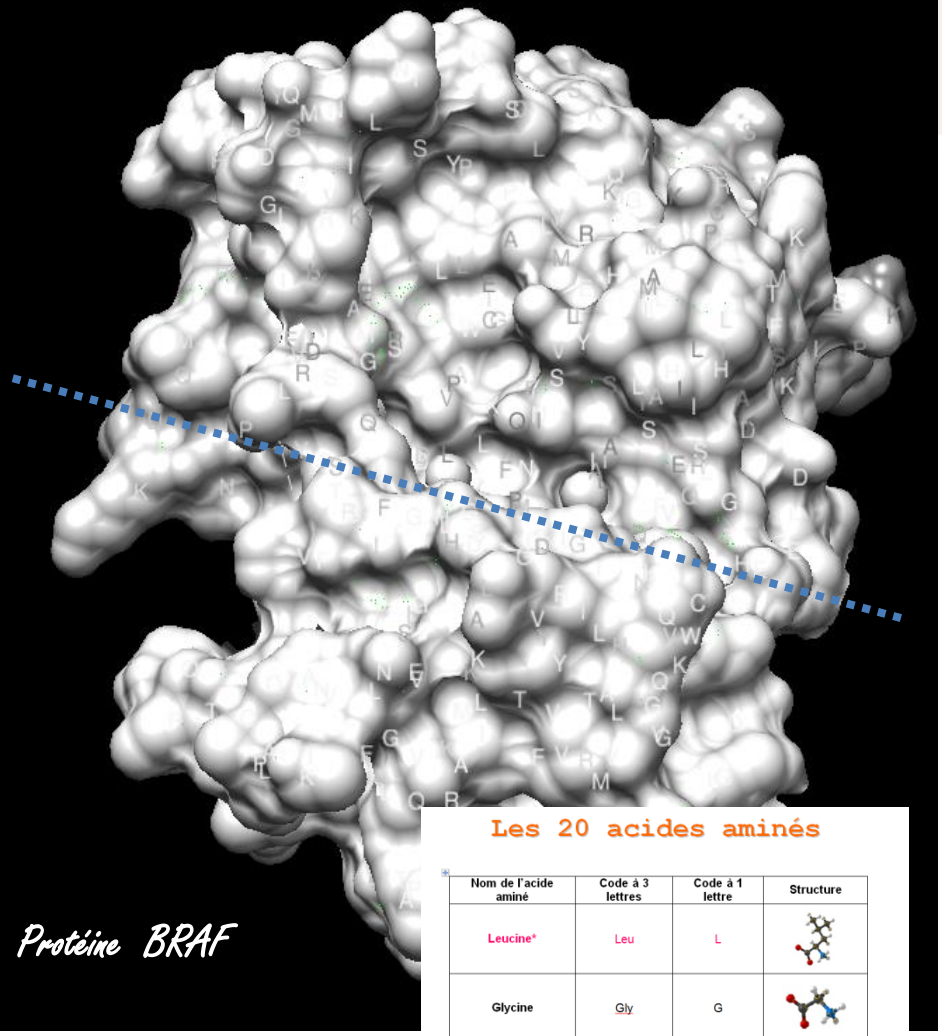
ATVK

SRWSGSHQFEQLSGSILWMAPEVIRMQDKNPYSFQSDVYAFGIVLYELMTGQLPYSNINN
RDQIIFMVGRGYLSPDLSKVRSNCPKAMKRLMAECLKKKRDERPLFPQILASIELLARS
LPKIHRSASEPSLNRAGFQTEDFSLYACASPKTPIQAGGYGAFPVH

V -> E (V600E)

La mutation t -> a dans la séquence ADN du gène BRAF
conduit au remplacement de l'acide aminé V (valine; codon gtg)
par l'acide aminé E (glutamate; codon gag)
en position 600 dans la séquence de la protéine.





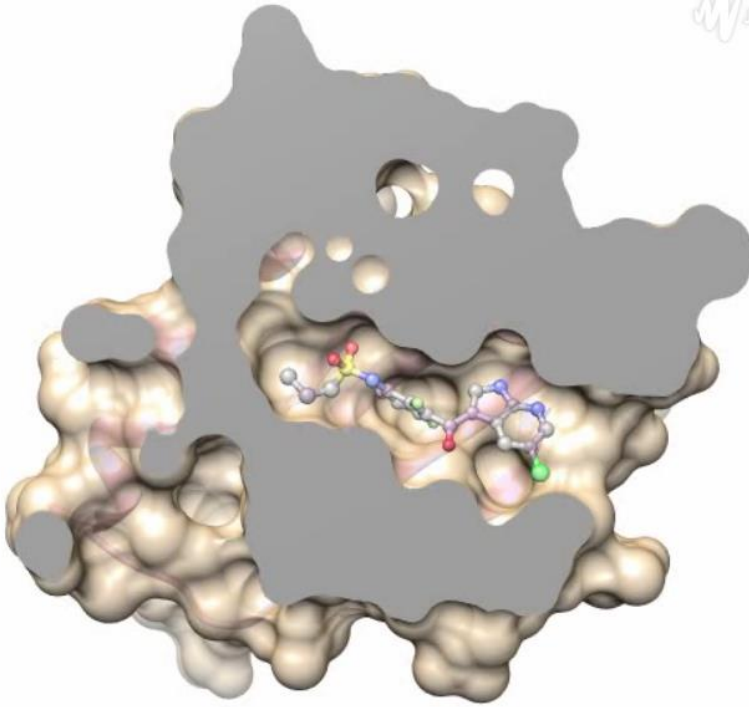
Protéine BRAF

Les 20 acides aminés

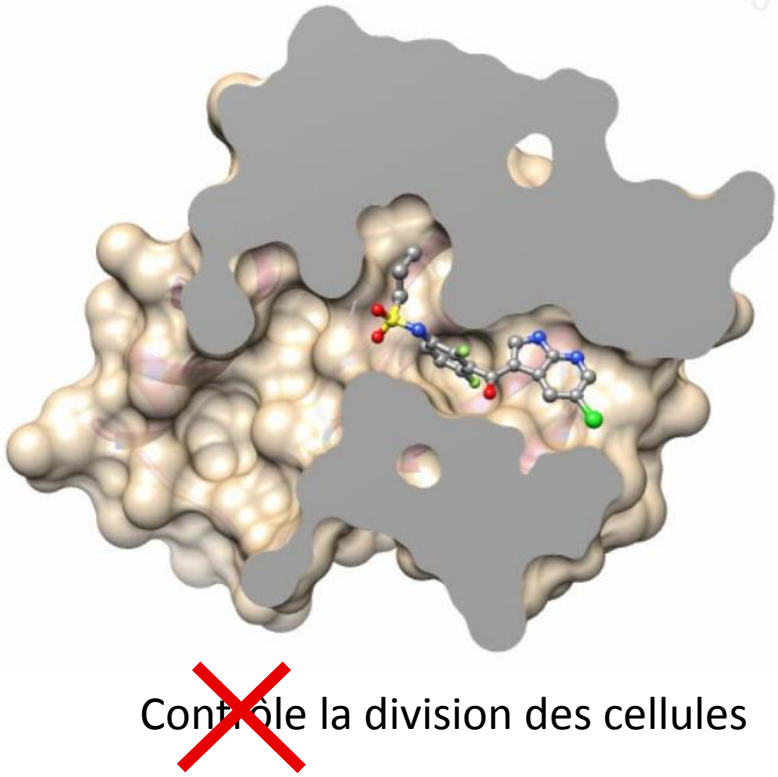
Nom de l'acide aminé	Code à 3 lettres	Code à 1 lettre	Structure
Leucine*	Leu	L	
Glycine	Gly	G	
Alanine	Ala	A	
Isoleucine*	Ile	I	
Valine*	Val	V	

La mutation V600E induit un changement dans la structure 3D de la protéine B-Raf

Vidéo: transition BRAF inactive -> BRAF active (V600E)



Contrôle la division des cellules



Contrôle la division des cellules

Google

braf V600E melanoma

All | Images | News | Videos | Shopping | More | Search tools

About 176.000 results (0,49 seconds)

Melanoma Marker BRAFV600E - dianova.com
Ad www.dianova.com/**BRAFV600E**/ +49 40 450670
Rabbit monoclonal Ab (100µg) for FFPE 1:100-500 / € 698 ex. VAT

Braf V600e Melanoma - dogpile.com
Ad info.dogpile.com/
Search all the best sites for **Braf V600e Melanoma**.
V600e braf mutation: Dogpile Web Search

Scholarly articles for braf V600E melanoma
… with vemurafenib in **melanoma** with **BRAF V600E** … - Chapman - Cited by 3756
… by dimerization of aberrantly spliced **BRAF** (**V600E**) - Poulikakos - Cited by 603
Unresponsiveness of colon cancer to **BRAF** (**V600E**) … - Prahallad - Cited by 705

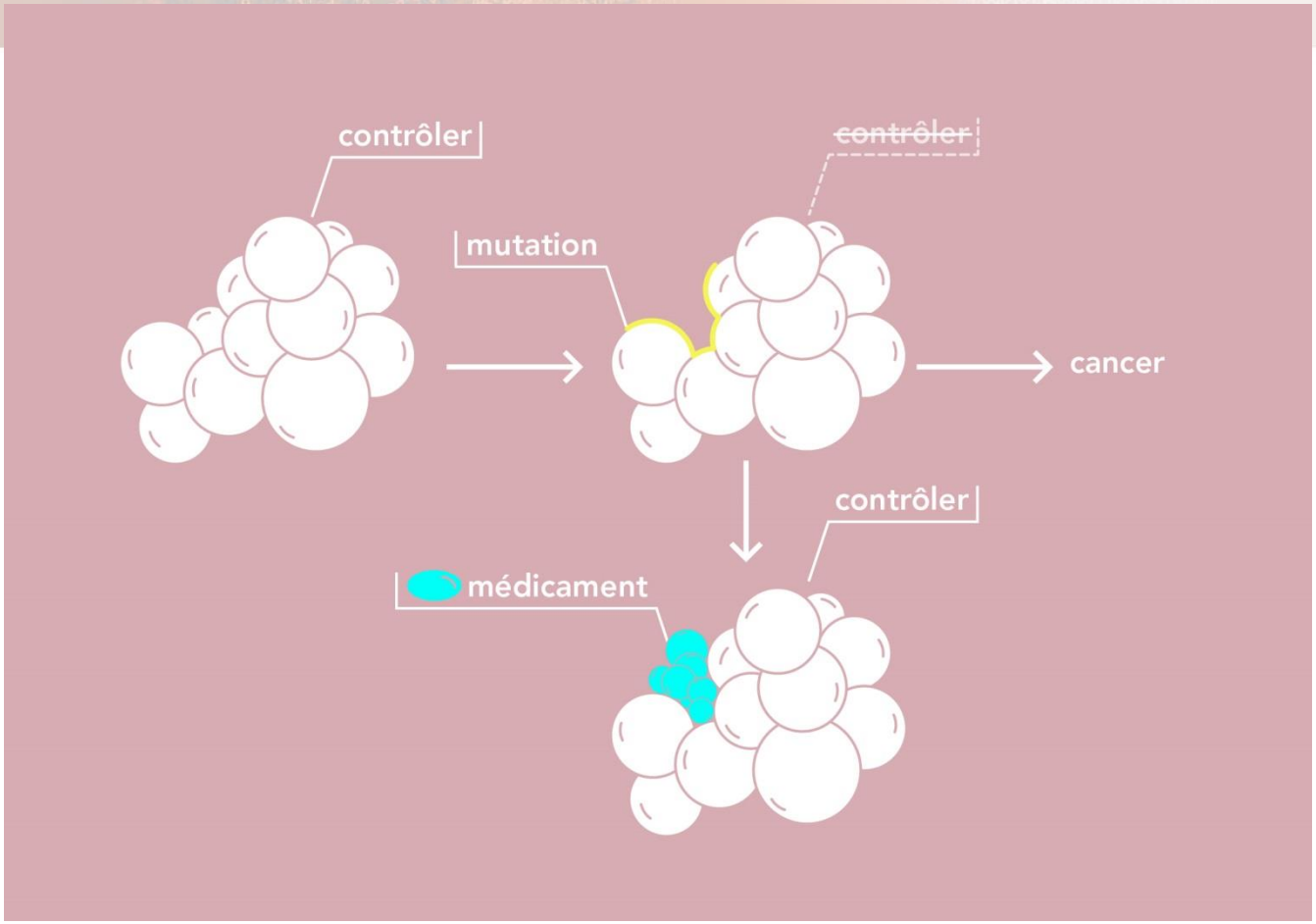
The role of BRAF V600 mutation in melanoma
www.ncbi.nlm.nih.gov › NCBI › Literature › PubMed Central (PMC)
by PA Ascierto - 2012 - Cited by 106 - Related articles
Jul 9, 2012 - About 50 % of **melanomas** harbors activating BRAF mutations (over 90 % V600E). **BRAFV600E** has been implicated in different mechanisms ...

une maladie
se déclare quand...

- ❑ Le site fonctionnel d'une protéine est **altéré**
- ❑ Une protéine est en **trop petite quantité**
- ❑ Une protéine est en **trop grande quantité**

Question

Que faire ?



Concevoir un médicament qui cible la protéine B-Raf ‘mutée’
et
qui permet de rétablir sa fonction ‘contrôle’.

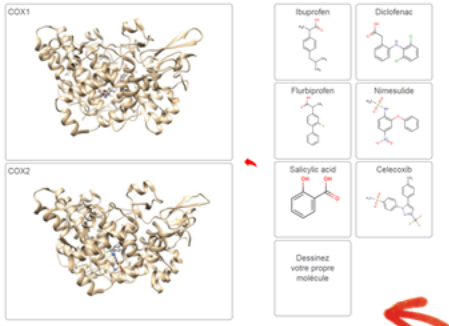
atelier
Drug Design

Une fois que la protéine cible a été identifiée…

4 étapes, plus de 2 ans de recherche bioinformatique…

2

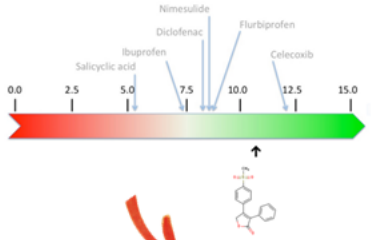
prédire comment la molécule médicament se lie à une protéine et la force de cette liaison (calcul d'un score)



1

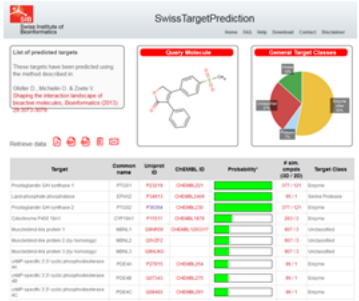
dessiner une molécule médicament

comment sont conçus les médicaments de demain ?



3

prédire la ou les protéines cible(s) de la molécule médicament



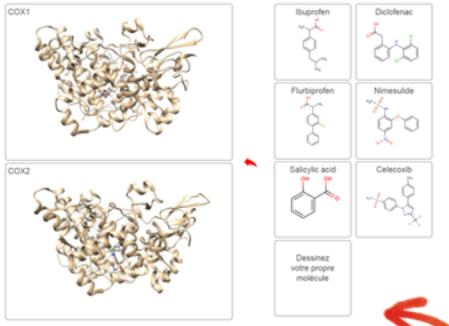
4

prédire le devenir de la molécule dans le corps humain: Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion

www.atelier-drug-design.ch

2

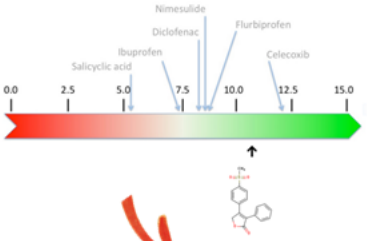
prédire comment la molécule médicament se lie à une protéine et la force de cette liaison (calcul d'un score)



1

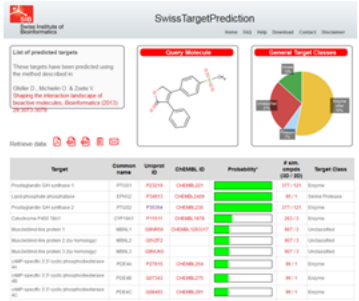
dessiner une molécule médicament

comment sont conçus les médicaments de demain ?



3

prédire la ou les protéines cible(s) de la molécule médicament



4

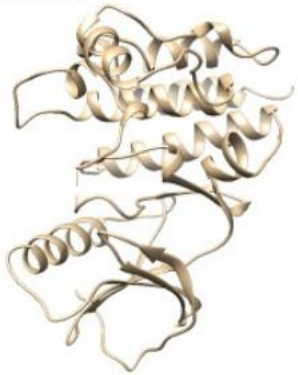
prédire le devenir de la molécule dans le corps humain: Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion

www.atelier-drug-design.ch

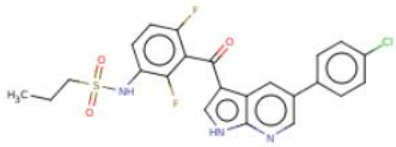
http://www.atelier-drug-design.ch/braf.php

BRAF V600E (forme active)

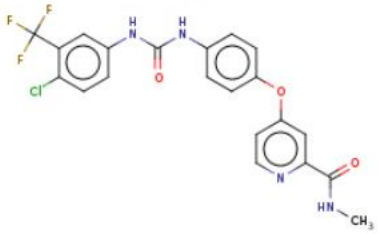
BRAF wt (forme inactive)



Vemurafenib



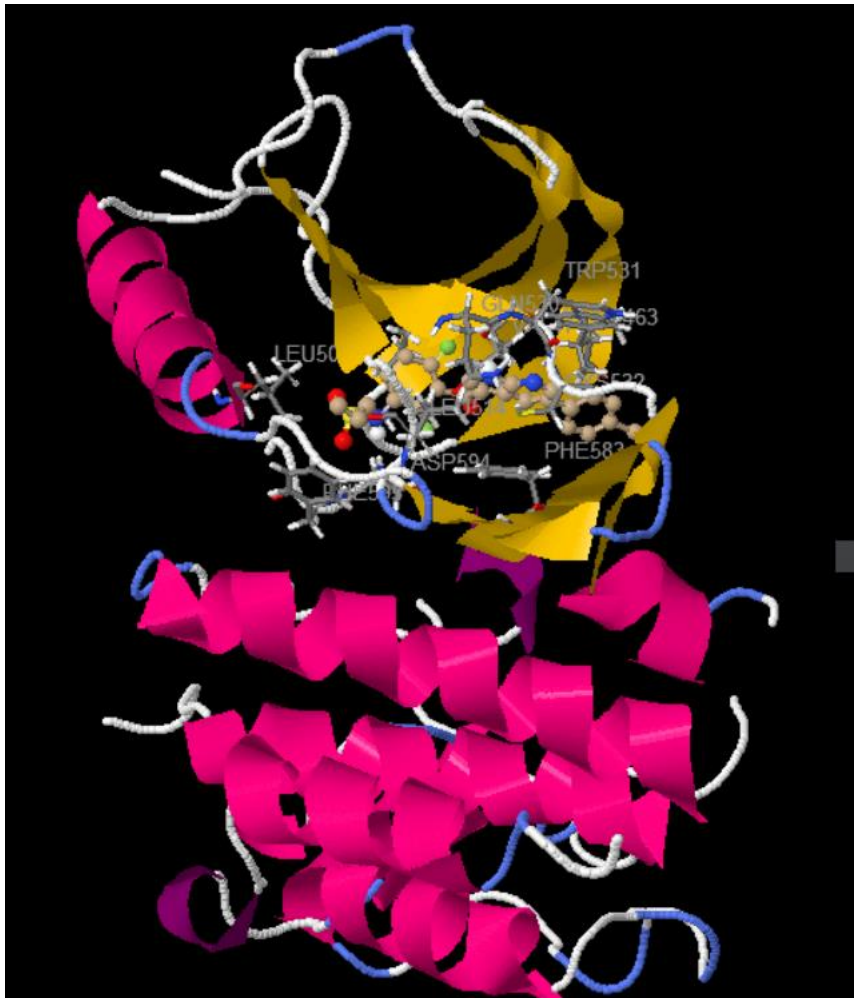
Sorafenib



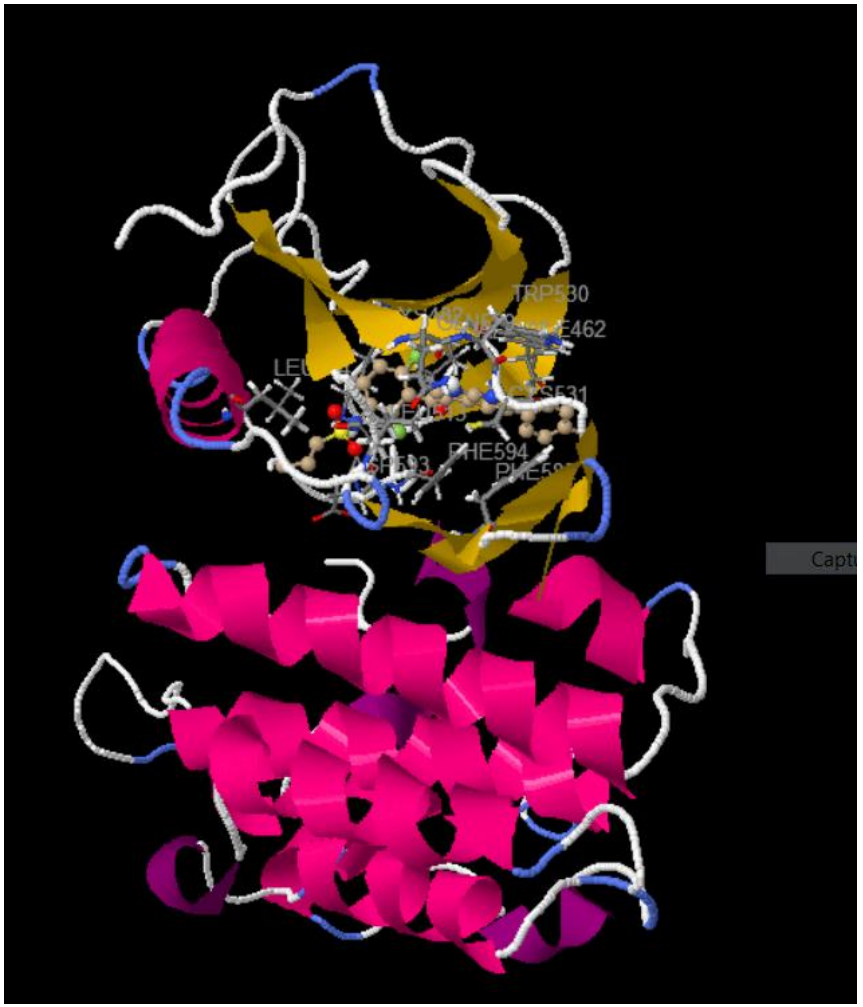
Dessinez
votre propre
molécule

Résultats Docking

BRAF actif (V600E) + Vemurafenib

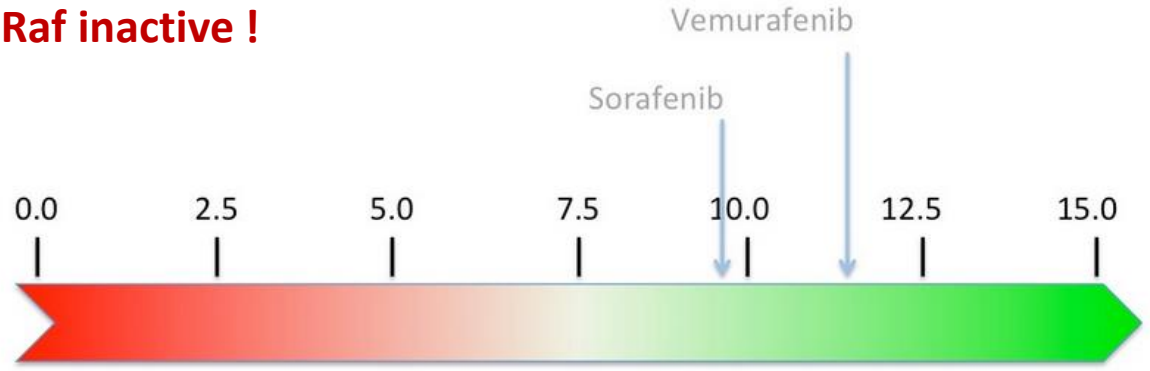


BRAF inactif + Vemurafenib

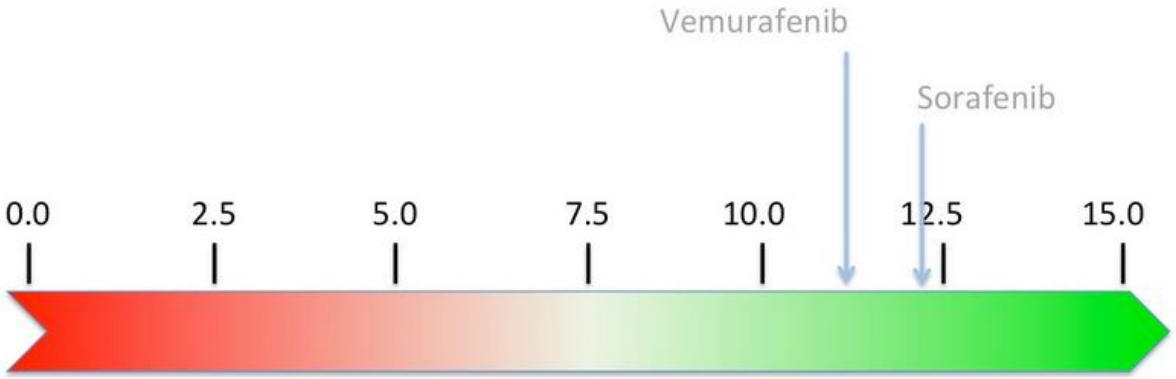


Le Vemurafenib est le médicament le plus approprié pour le traitement du mélanome: il a une plus grande affinité pour B-Raf V600E active que pour B-Raf inactive !

BRAF active (V600E)



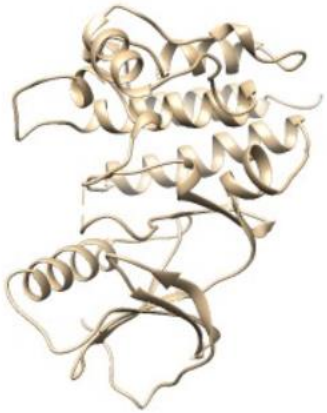
BRAF inactive



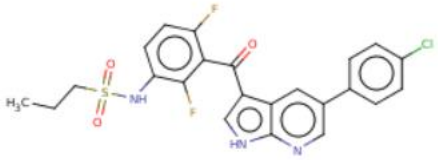
BRAF actif

Mutée (V600E)

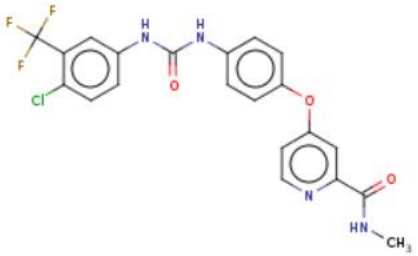
BRAF inactif



Vemurafenib



Sorafenib

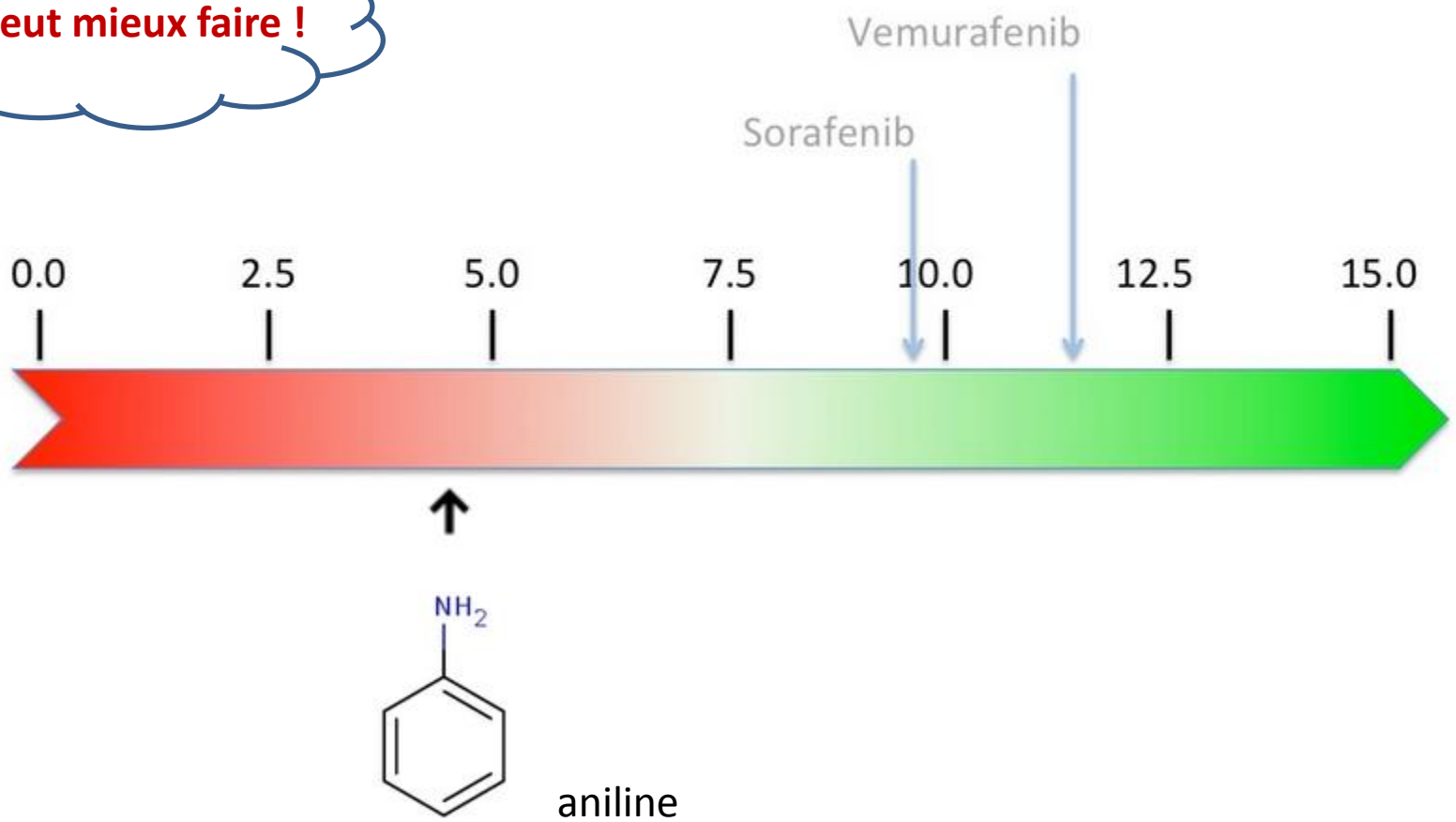


Dessinez
votre propre
molécule

Score du docking de votre molécule

Le score de votre molécule est: 4.5

Peut mieux faire !



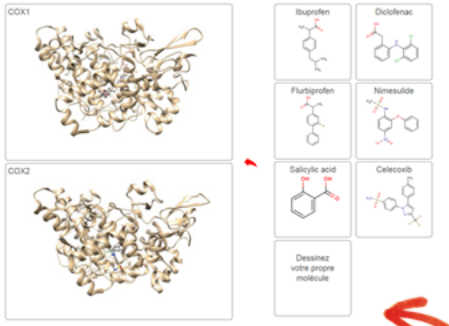
aniline

Question

Est-ce que la molécule médicament cible uniquement la protéine B-Raf ?

2

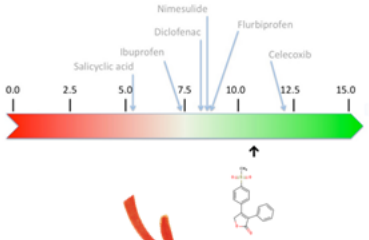
prédire comment la molécule médicament se lie à une protéine et la force de cette liaison (calcul d'un score)



1

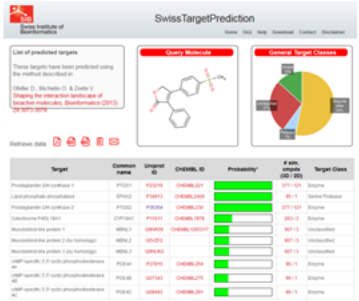
dessiner une molécule médicament

comment sont conçus les médicaments de demain ?



3

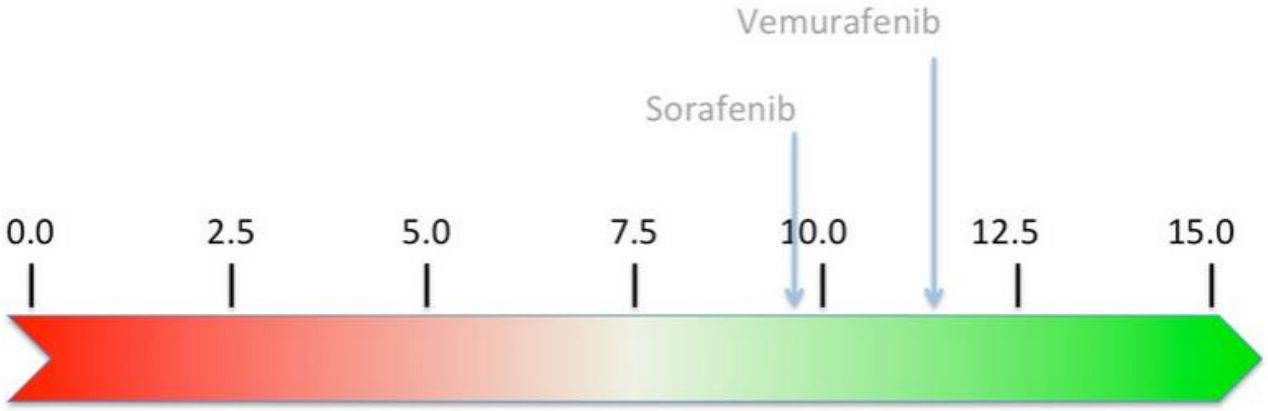
prédire la ou les protéines cible(s) de la molécule médicament



4

prédire le devenir de la molécule dans le corps humain: Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion

www.atelier-drug-design.ch



Pour aller plus loin:

Prédire les cibles possibles avec SwissTargetPrediction

Prédire les propriétés de votre molécule avec SwissADME

Le programme SwissTargetPrediction compare la molécule médicament que vous soumettez avec 280’000 molécules connues pour interagir avec 2000 protéines.
Si votre molécule ressemble à une de ces molécules, SwissTarget vous donne le score de similitude et le nom des protéines qui interagissent avec elles.

Connaître les cibles potentiels d'un médicament: un moyen parmi d'autres pour rechercher de nouvelles utilisations pour un médicament existant (processus appelé '***drug repurposing***' en Anglais).

Exemples:

- Viagra: hypertension, angine de poitrine -> dysfonction érectile
- Thalidomide: anti-douleur -> traitement de la lèpre

Résultats
Swiss Target Prediction

Vemurafenib

SIB Swiss Institute of Bioinformatics

SwissTargetPrediction

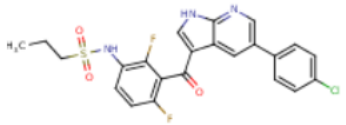
Home FAQ Help Download Contact Disclaimer

List of predicted targets

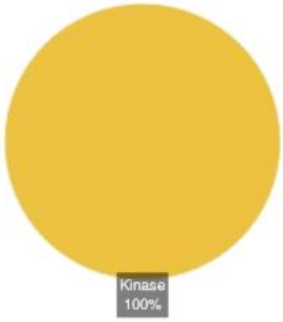
These targets have been predicted using the method described in:

Gfeller D., Michielin O. & Zoete V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules, *Bioinformatics* (2013) 29:3073-3079.

Query Molecule



Frequency of Target Class



Retrieve data:

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase	RAF1	P04049	CHEMBL1906		12 / 2	Ser_Thr_Tyr Kinase
Serine/threonine-protein kinase B-raf	BRAF	P15056	CHEMBL5145		12 / 2	Ser_Thr_Tyr Kinase
Serine/threonine-protein kinase A-Raf *(by homology)*	ARAF	P10398	CHEMBL1169596		12 / 2	Ser_Thr Kinase
Platelet-derived growth factor receptor beta	PDGFRB	P09619	CHEMBL1913		42 / 1	Tyr Kinase
Platelet-derived growth factor receptor alpha	PDGFRA	P16234	CHEMBL2007		42 / 1	Tyr Kinase

Sorafenib

SIB Swiss Institute of Bioinformatics

SwissTargetPrediction

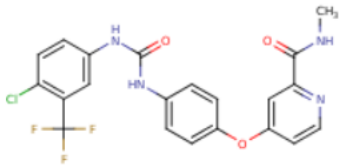
Home FAQ Help Download Contact Disclaimer

List of predicted targets

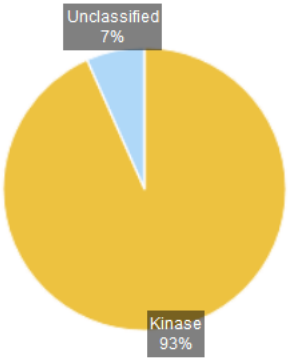
These targets have been predicted using the method described in:

Gfeller D., Michielin O. & Zoete V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules, *Bioinformatics* (2013) 29:3073-3079.

Query Molecule



General Target Classes



Retrieve data:

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
Serine/threonine-protein kinase PLK4	PLK4	O00444	CHEMBL3788		1 / 1	Ser_Thr Kinase
Citron Rho-interacting kinase	CIT	O14578	CHEMBL5579		1 / 2	Ser_Thr Kinase
Aurora kinase A	AURKA	O14965	CHEMBL4722		44 / 21	Ser_Thr Kinase
Muscle, skeletal receptor tyrosine-protein kinase	MUSK	O15146	CHEMBL5684		1 / 2	Tyr Kinase
Ephrin type-B receptor 6	EPHB6	O15197	CHEMBL5836		33 / 6	Unclassified
Mitogen-activated protein kinase 13	MAPK13	O15264	CHEMBL2939		1 / 2	Ser_Thr Kinase

ATP (substrat naturel)

Swiss Institute of Bioinformatics

SwissTargetPrediction

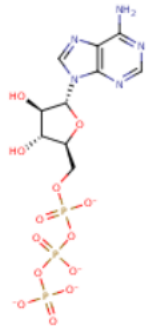
Home FAQ Help Download Contact Disclaimer

List of predicted targets

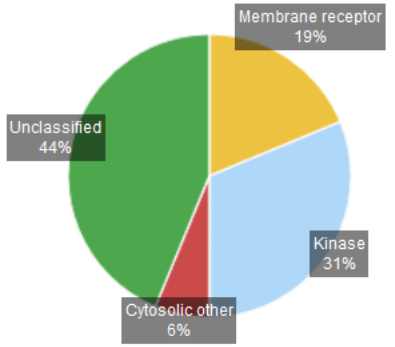
These targets have been predicted using the method described in:

Gfeller D., Michielin O. & Zoete V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules, *Bioinformatics* (2013) 29:3073-3079.

Query Molecule



General Target Classes



Retrieve data:

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Probability	# sim. cmpds (3D / 2D)	Target Class
P2Y purinoceptor 1	P2RY1	P47900	CHEMBL4315		5 / 29	Membrane receptor
Serine/threonine-protein kinase Chk1	CHEK1	O14757	CHEMBL4630		1 / 1	Ser_Thr Kinase
Complex	CCNE2/CDK2 /CCNE1	O96020/P24941 /P24864	CHEMBL2094126		1 / 1	Cytosolic other /Ser_Thr Kinase
Heat shock 70 kDa protein 1A/1B	HSPA1A	P08107	CHEMBL5460		2 / 14	Unclassified
78 kDa glucose-regulated protein *(by homology)*	HSPA5	P11021	CHEMBL1781865		2 / 14	Unclassified
Heat shock cognate 71 kDa protein *(by homology)*	HSPA8	P11142	CHEMBL1275223		2 / 14	Unclassified

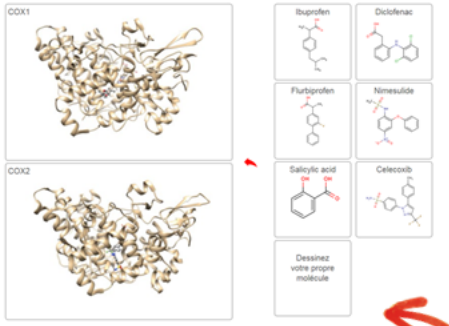
Question

Comment se comporte le médicament que vous avez dessiné dans le corps humain ?

Absorbtion (voie orale, tractus disgestif)
Distribution (cerveau ?)
Métabolisme (produits dérivés potentiellement toxiques ?)
Excrétion

2

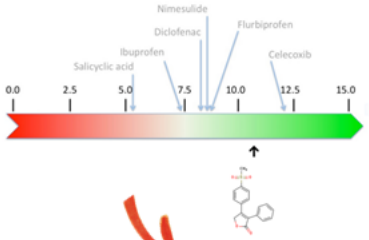
prédire comment la molécule médicament se lie à une protéine et la force de cette liaison (calcul d'un score)



1

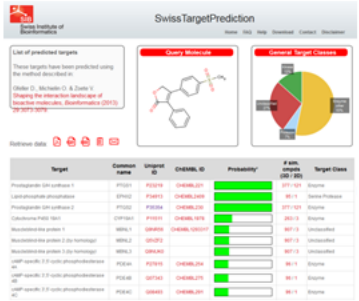
dessiner une molécule médicament

comment sont conçus les médicaments de demain ?



3

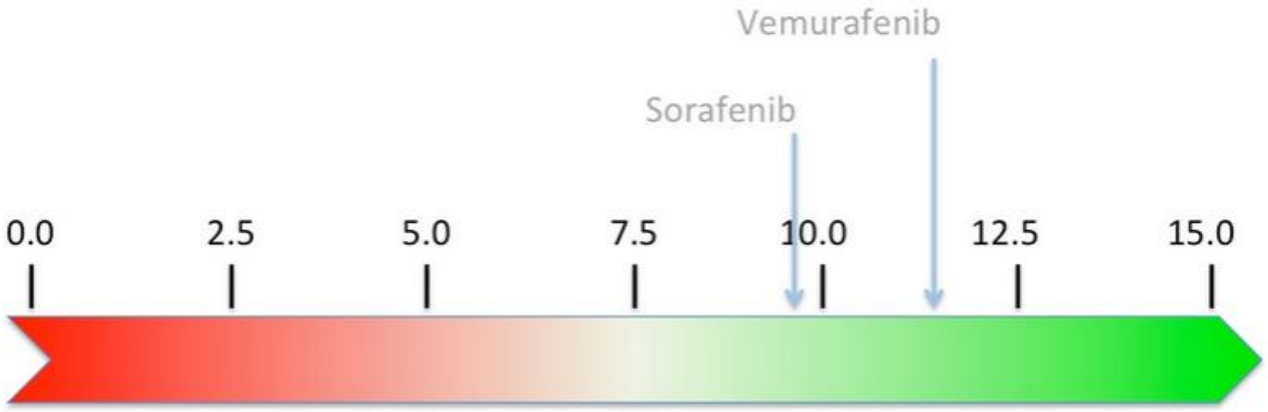
prédire la ou les protéines cible(s) de la molécule médicament



4

prédire le devenir de la molécule dans le corps humain: Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion

www.atelier-drug-design.ch



Pour aller plus loin:

Prédire les cibles possibles avec SwissTargetPrediction

Prédire les propriétés de votre molécule avec SwissADME

Résultats ADME

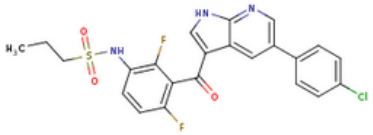
SIB Swiss Institute of Bioinformatics

SwissADME beta

Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion

Home FAQ Help Disclaimer

Molecule 1



SMILES CCCS(=O)(=O)Nc1ccc(c(c1F)C(=O)c1c[nH]c2c1cc(cn2)c1ccc(cc1)Cl)F

Formula C23H18ClF2N3O3S

Molecular weight	
Num. heavy atoms	33
Num. arom. he	
Num. rotatable	
Num. H-bond a	
Num H-bond d	
Molar Refractivity	
TPSA	
Log $P_{o/w}$ (S	
Log $P_{o/w}$ (M	
Log $P_{o/w}$ (XLO	
Log $P_{o/w}$ (SILI	
Log $P_{o/w}$ (Man	

Solubility in water	
Log *S* (ESOL)	-6.02
Solubility	4.71e-04 mg/ml ; 9.60e-07 mol/l
Class	
Log *S* (Ali)	
Solubility	
Class	
Log *S* (SILICOS-IT)	
Solubility	9.49e-07 mg/ml ; 1.94e-09 mol/l
Class	Poorly soluble
Pharmacokinetics	
P-gp substrate	Yes
GI-tract absorption	High
Log K_p (skin permeation)	-5.76 cm/s
Druglikeness	
Lipinski	Yes; 0 violation
Ghose	No; 2 violation(s): MW>480/SLOGP>5.6
Veber	Yes
Egan	No; 1 violation(s): SLOGP>5.88
Muegge	Yes
Lead	Yes
Bioavailability Score	0.55
Medicinal chemistry	
PAINS	0 alert
Brenk	0 alert
Synthetic accessibility	

N'atteint pas le cerveau
(substrat de la protéine P-gp = éjecté du CNS)

Absorbé au niveau du tractus digestif

Absorbtion au niveau de la peau

Le médicament existe déjà ?

Prédiction de la difficulté à synthétiser la molécule

http://www.swissadme.ch/

SIB Swiss Institute of Bioinformatics

SwissADME

Home FAQ Help Disclaimer

face à la réalité des prédictions bioinformatiques...

* *Valeurs importantes*

SMILES CCCS(=O)(=O)Nc1ccc(c(c1F)C(=O)c1c[nH]c2c1cc(cn2)c1ccc(cc1Cl)F

Formula C23H18ClF2N3O3S

SMILE: un des formats utilisés pour représenter informatiquement une molécule

Physicochemical properties	
Molecular weight	489.92 g/mol
Num. heavy atoms	33
Num. arom. heavy atoms	21
Num. rotatable bonds	7
Num. H-bond acceptors	6
Num H-bond donors	2
Molar Refractivity	124.21
TPSA	100.30 Å²

Quelques propriétés physicochimiques de base dont '**TPSA**' = la surface polaire de la molécule

Lipophilicity	
Log $P_{o/w}$ (iLOGP)	3.08
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3)	4.97
Log $P_{o/w}$ (SLOGP)	7.27
Log $P_{o/w}$ (MLOGP)	3.41
Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT)	5.78
Consensus Log $P_{o/w}$	* 4.90

estimation de la répartition de la molécule entre l'eau et l'octanol (l'octanol est un solvant qui possède des propriétés similaires à celles de la membranes des cellules):
logPo/w :
valeur positive: propriété hydrophobe
valeur négative: propriété hydrophile

Les molécules solubles dans l'eau peuvent plus facilement être prises par voie orale

Solubility in water	
Log *S* (ESOL)	-6.02
Solubility	4.71e-04 mg/ml ; 9.60e-07 mol/l
Class	* Poorly soluble
Log *S* (Ali)	-6.81
Solubility	7.50e-05 mg/ml ; 1.53e-07 mol/l
Class	* Poorly soluble
Log *S* (SILICOS-IT)	-10.07
Solubility	4.12e-08 mg/ml ; 8.41e-11 mol/l
Class	* Insoluble

Si la molécule est un substrat de la protéine P-gp, elle sera éjectée du cerveau

Pharmacokinetics	
P-gp substrate	* Yes
GI-tract absorption	* High
Log K_p (skin permeation)	* -5.76 cm/s

Probabilité que la molécule soit absorbée au niveau du tractus digestif

Probabilité que la molécule soit absorbée au niveau de la peau: une molécule passe la peau si le score est supérieur à -5 (valeurs positives)

* Druglikeness	
Lipinski	Yes; 0 violation
Ghose	No; 2 violation(s): MW>480/SLOGP>5.6
Veber	Yes
Egan	No; 1 violation(s): SLOGP>5.88
Muegge	Yes
Lead-like	No; 2 violation(s): MW>350/XLOGP3>3.5
Bioavailability Score	0.55

Similarité avec un médicament existant (pris par voie orale); MW le poids moléculaire; SLOG et XLOGP: hydrophilicité (voir ci-dessus)

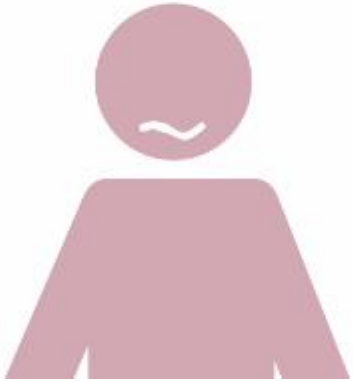
Medicinal chemistry	
PAINS	* 0 alert
Brenk	* 0 alert
Synthetic accessibility	* 2.91

Une 'alert' signifie que la molécule contient des fragments connus pour être toxiques, instables ou induisant de 'fausses' propriétés biologiques (par exemple: liaison non spécifique aux protéines)

La synthèse d'une molécule doit être la plus simple possible pour optimiser les coûts de production: plus le score est élevé (1 à 10), plus la synthèse est complexe.

Atelier IDO1

une maladie
se déclare quand...



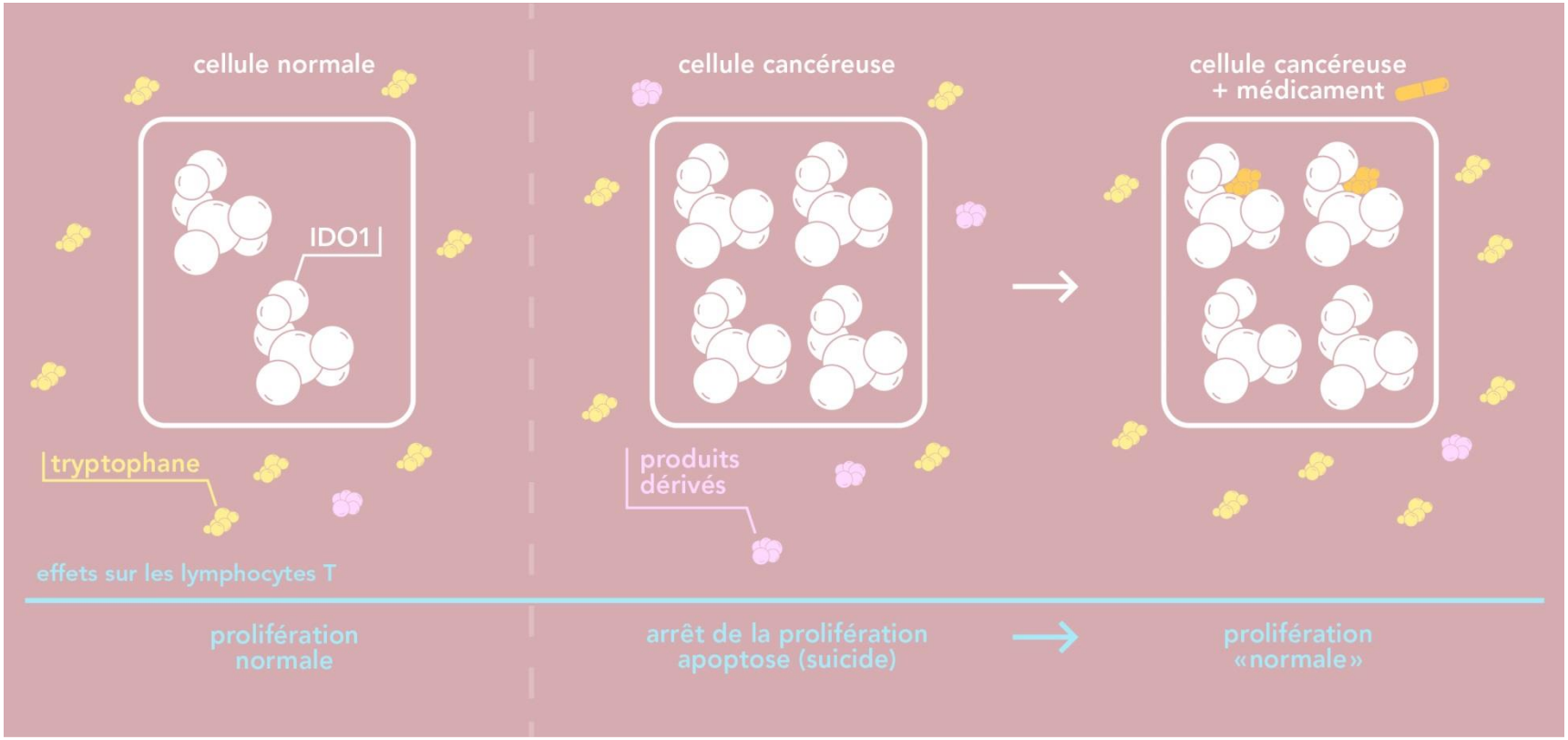
- ❑ Le site fonctionnel d'une protéine est **altéré**
- ❑ Une protéine est en **trop petite quantité**
- ➡ ❑ Une protéine est en **trop grande quantité**

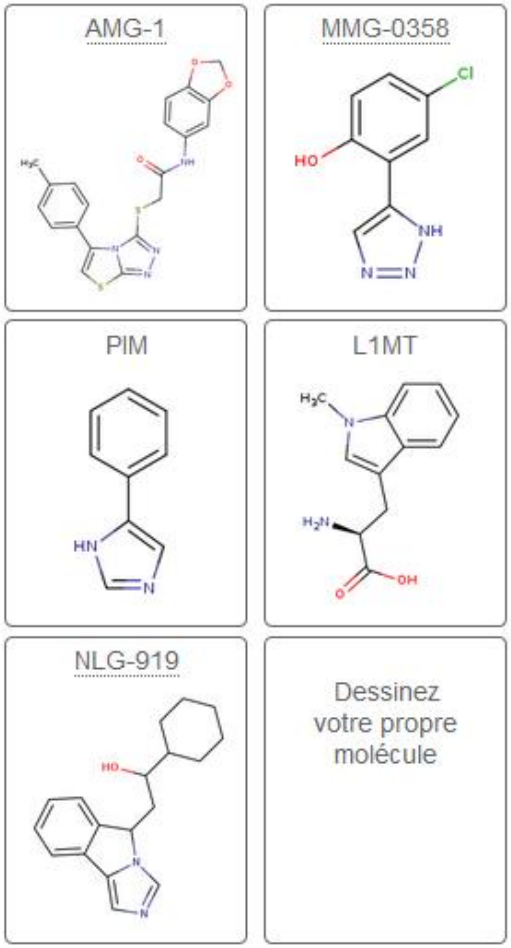
Le système immunitaire joue un rôle clé dans la lutte contre le cancer: il traque et élimine les cellules cancéreuses. Mais ces dernières déploient toute une série d'astuces pour échapper à sa vigilance.

De nombreuses cellules cancéreuses produisent la protéine IDO1 en grande quantité. Un taux élevé d'IDO1 dans une tumeur est souvent lié à un mauvais pronostique. Pourquoi?

IDO1 est une protéine impliquée dans la dégradation de l'acide aminé tryptophane. Le tryptophane est un acide aminé essentiel: il doit être en quantité suffisante pour que les cellules puissent se diviser normalement.

Dans l'environnement d'une cellule cancéreuse produisant IDO1 en grande quantité, la baisse de la concentration de tryptophane entraîne un arrêt de la prolifération des cellules du système immunitaire (lymphocytes T). De plus, certains produits dérivés de la dégradation du tryptophane sont directement toxiques pour les lymphocytes T.

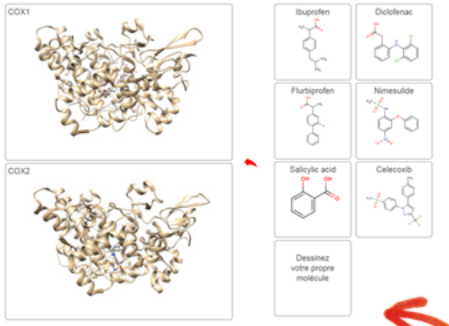

cellule normale
IDO1
tryptophane
cellule cancéreuse
produits dérivés
cellule cancéreuse + médicament
effets sur les lymphocytes T
prolifération normale
arrêt de la prolifération apoptose (suicide)
prolifération «normale»



- **AMG-1**, un imidazothiazole développé par Dainippon Sunimoto Pharma.
- **MG-0358**, un triazole développé par le SIB Institut Suisse de Bioinformatique. MMG-0358 a une forte affinité pour IDO1 et est actif *in vivo*.
- **PIM**, un triazole. PIM est l'un des premiers inhibiteurs d'IDO1 dont la structure 3D en complexe avec IDO1 a été obtenue. PIM a une faible affinité pour IDO1 et est peu spécifique.
- **L1MT**, ou L-1-methyltryptophane, un analogue inerte du tryptophane qui inhibe IDO1. L1MT est en cours d'évaluation clinique pour le traitement des cancers du sein et de la prostate.
- **NLG-919**, un imidazole développé par NewLink Genetics. NLG-919 est actuellement en cours d'évaluation clinique pour le traitement de tumeurs solides.

2

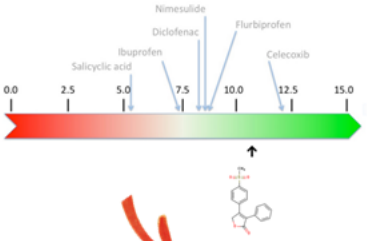
prédire comment la molécule médicament se lie à une protéine et la force de cette liaison (calcul d'un score)



1

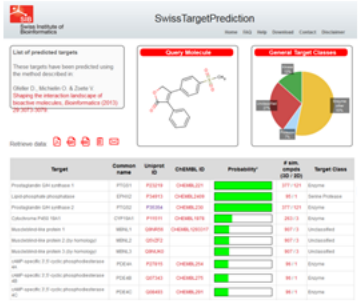
dessiner une molécule médicament

comment sont conçus les médicaments de demain ?



3

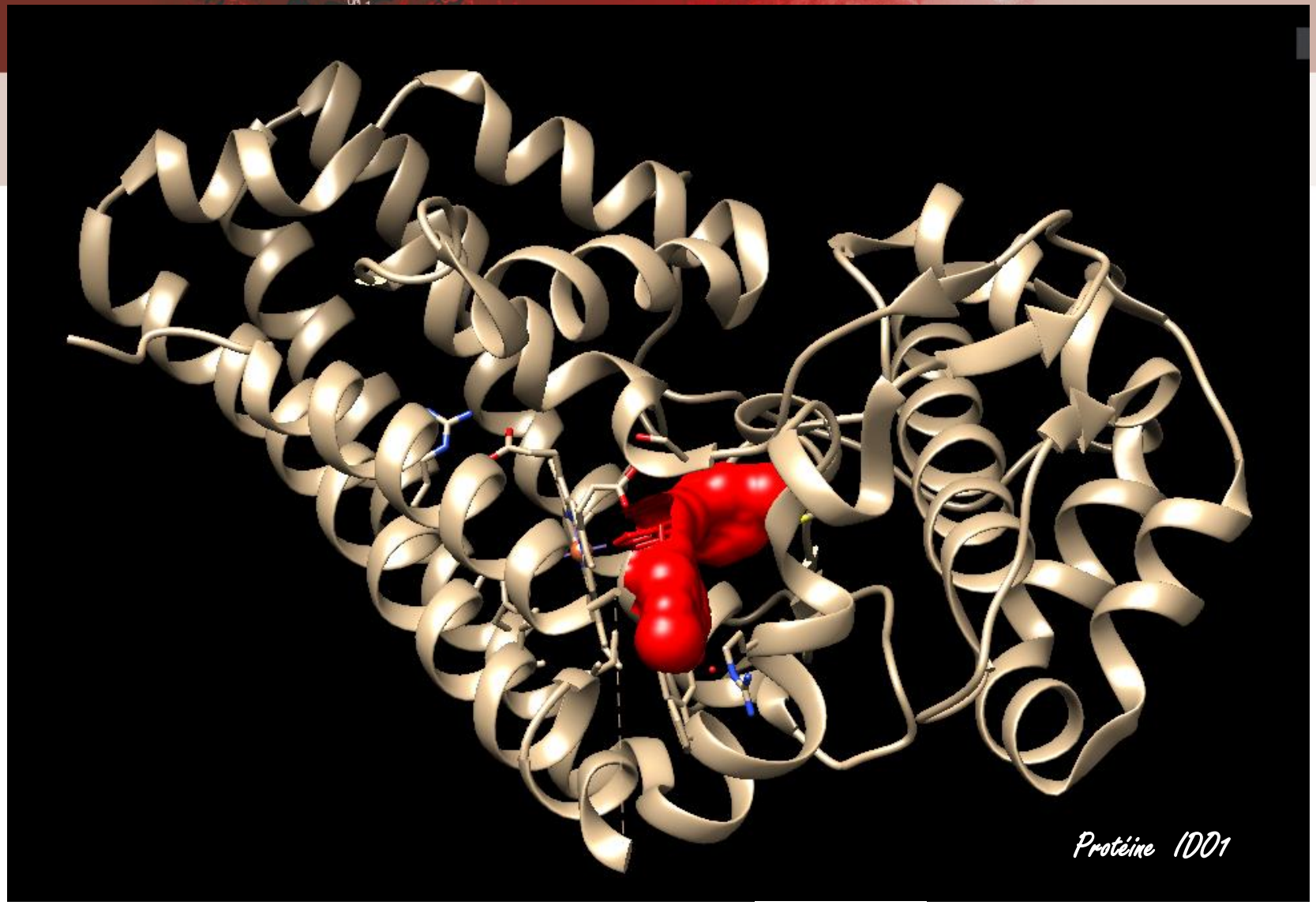
prédire la ou les protéines cible(s) de la molécule médicament



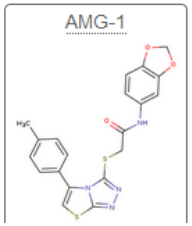
4

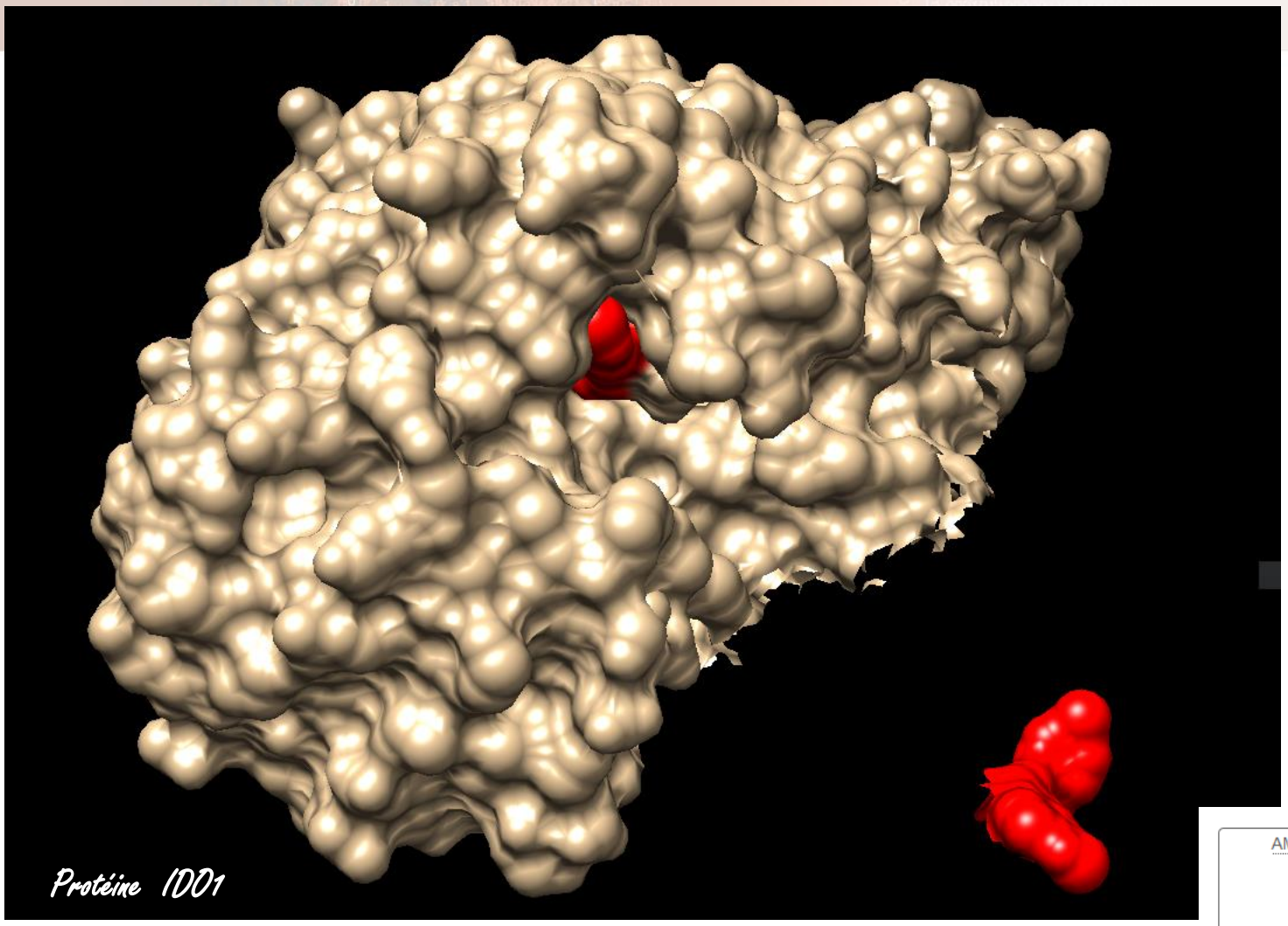
prédire le devenir de la molécule dans le corps humain: Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion

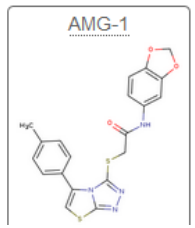
www.atelier-drug-design.ch



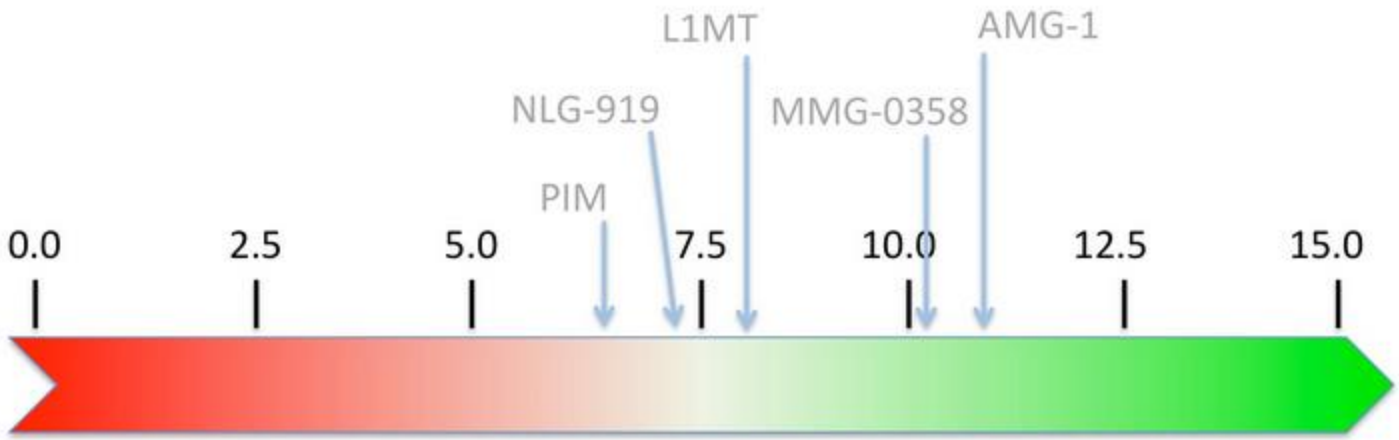
IDO1 avec AMG-1





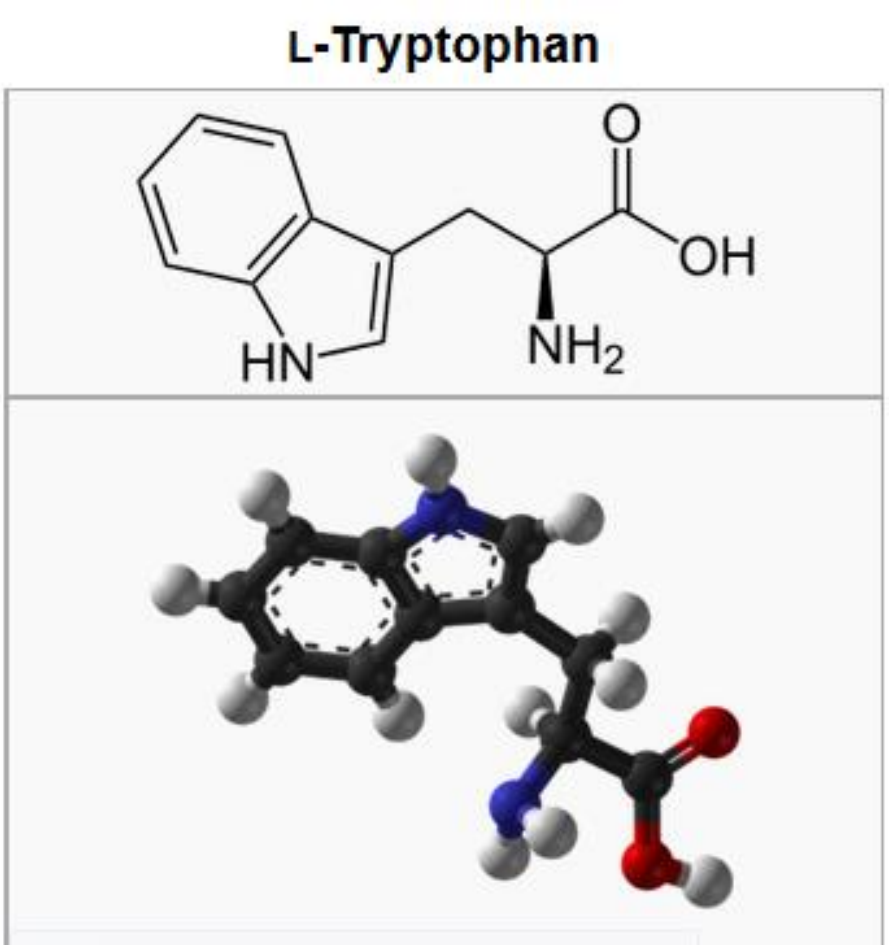


IDO1 avec AMG-1



- **AMG-1**, un imidazothiazole développé par Dainippon Sunimoto Pharma.
- **MG-0358**, un triazole développé par le SIB Institut Suisse de Bioinformatique. MMG-0358 a une forte affinité pour IDO1 et est actif *in vivo*.
- **PIM**, un triazole. PIM est l'un des premiers inhibiteurs d'IDO1 dont la structure 3D en complexe avec IDO1 a été obtenue. PIM a une faible affinité pour IDO1 et est peu spécifique.
- **L1MT**, ou L-1-methyltryptophane, un analogue inerte du tryptophane qui inhibe IDO1. L1MT est en cours d'évaluation clinique pour le traitement des cancers du sein et de la prostate.
- **NLG-919**, un imidazole développé par NewLink Genetics. NLG-919 est actuellement en cours d'évaluation clinique pour le traitement de tumeurs solides.

contre le cancer (IDO1)

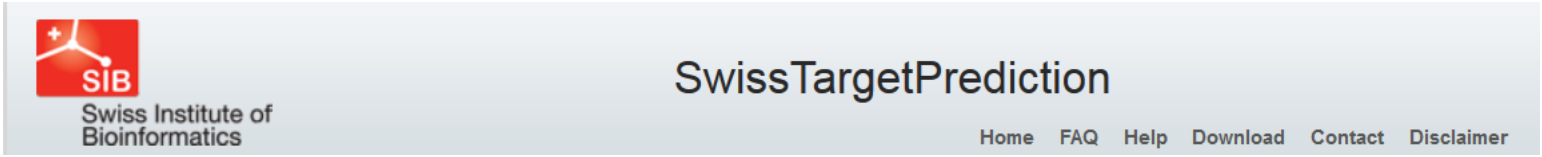


Tryptophane : substrat naturel d'IDO1; un acide aminé essentiel

SMILES: c1ccc2c(c1)c(c[nH]2)C[C@@H](C(=O)O)N

Bonus

Un peu de bioinformatique

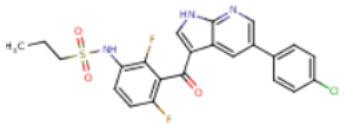


Cet outil bioinformatique prédit la cible de l'activité de petites molécules. Il compare une petite molécule avec 280'000 molécules connues pour être actives sur plus de 2000 protéines cibles.

Ex: Bisphenol A

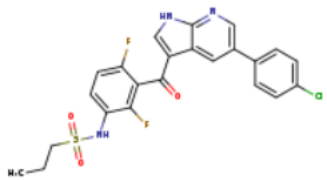
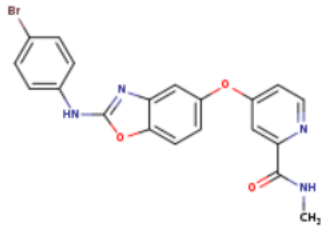
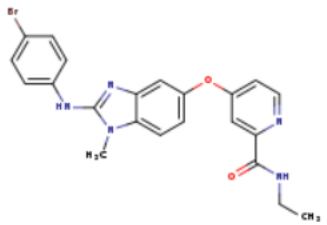
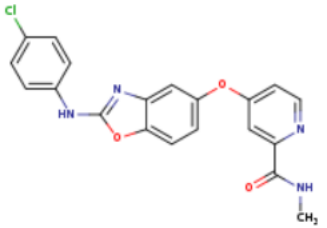
www.swisstargetprediction.ch

Query Molecule



Retrieve data:

Ligands of RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase (RAF1) with 3D-based similarity ;

CHEMBL1229517	CHEMBL1778393	CHEMBL470359	CHEMBL1162958
Similarity: 0.992	Similarity: 0.814	Similarity: 0.792	Similarity: 0.788
			

Fingerprints moléculaires

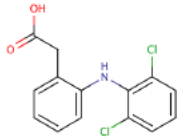
But: quantifier la similarité de la structure chimique de 2 molécules.

…et toucher du doigts les algorithmes des programmes utilisés pour le drug design:

- ✓ retrouver "visuellement" des mini-fragments dans différentes molécules
- ✓ stocker cette information dans un «vecteur»
- ✓ calculer simplement la similarité entre les vecteurs

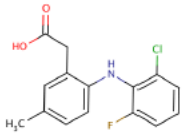
Retrouve ces fragments dans les molécules. Mets un 1 dans les cases correspondantes si tu les trouves et 0 sinon.

Diclofenac

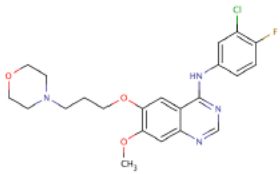


1	1	1	0	1	0	0	0

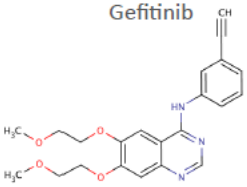
Lumiracoxib



Erlotinib



Gefitinib



Calcul de similarité
Coefficient de Tanimoto

$$T = \frac{M_{11}}{M_{11} + M_{10} + M_{01}}$$

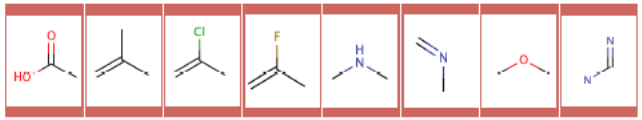
M_{11}: nombre de cases où l'on trouve 1 à la fois chez A et chez B
M_{10}: nombre de cases où l'on trouve 1 chez A et 0 chez B
M_{01}: nombre de cases où l'on trouve 0 chez A et 1 chez B

$0 \leq T \leq 1$

T = 0 : molécules totalement différentes
T = 1 : molécules identiques

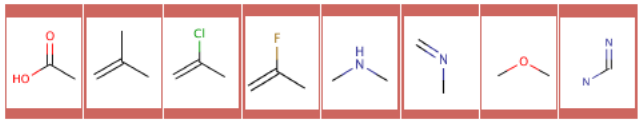
Example:

A



1	1	1	0	1	0	0	0

B



1	1	0	1	1	0	0	1

$M_{11} = 3$
$M_{10} = 1$
$M_{01} = 2$

$$T = \frac{3}{3+1+2} = 0.5$$

Calcul de similarité
Coefficient de Tanimoto

$$T = \frac{M_{11}}{M_{11} + M_{10} + M_{01}}$$

M_{11}: nombre de cases où l'on trouve 1 à la fois chez A et chez B
M_{10}: nombre de cases où l'on trouve 1 chez A et 0 chez B
M_{01}: nombre de cases où l'on trouve 0 chez A et 1 chez B

$0 \leq T \leq 1$

T = 0 : molécules totalement différentes
T = 1 : molécules identiques

	Diclofenac	Lumiracoxib	Erlotinib	Gefinitib
Diclofenac				
Lumiracoxib				
Erlotinib				
Gefinitib				

Quelles sont les paires de molécules les plus similaires?

Quelques chiffres

- ✓ 10^{60} molécules possibles
- ✓ 35 millions de molécules disponibles
- ✓ moins de 2'000 molécules sont des molécules médicaments (approuvées par la FDA)
- ✓ 280'000 molécules sont connues pour être actives sur plus de 2000 protéines cibles.

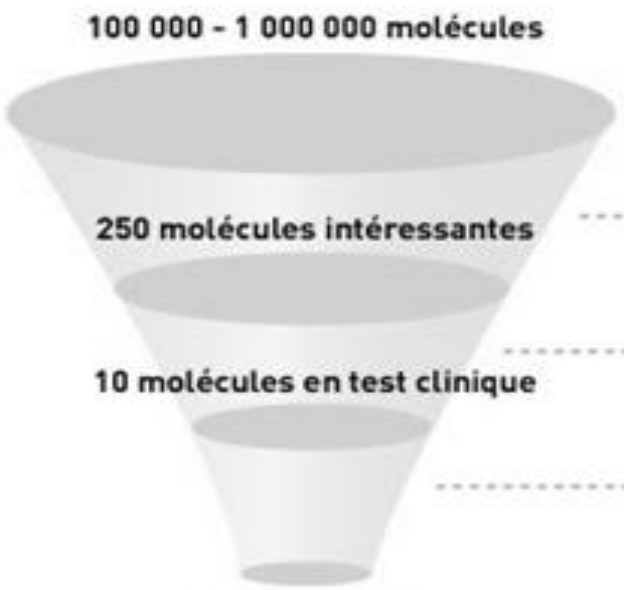
- ✓ plus de 10 ans de travail pour concevoir une nouvelle molécule médicament (analyses bioinformatiques, tests en laboratoire, tests cliniques, …)

des dizaines
de nouvelles molécules disponibles pour les patients par année!

des milliers
de projets en cours

coût d'un projet:
1 milliard
de dollars

des milliers
de petites molécules et une seule élue!



2 à 5 ans de recherche pour découvrir une façon d'attaquer la maladie

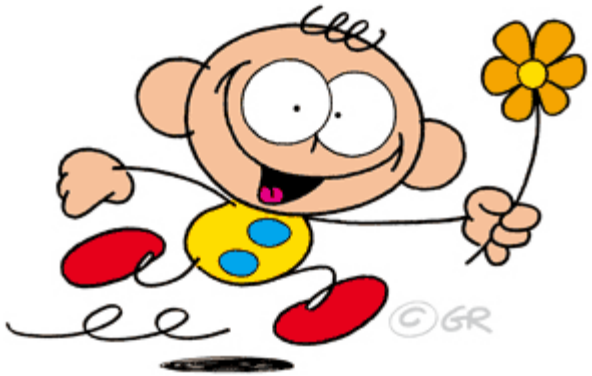
2 à 5 ans pour développer des candidats-médicaments

4 à 7 ans pour prouver l'efficacité d'un candidat-médicament

Total :
> environ 10 ans de travail
> 1 chance sur mille de réussir
> Des centaines de chercheurs impliqués
> 800 millions d'Euros pour un succès

Ils collaborent
sans cesse

Merci pour votre participation !



FNSNF
FONDS NATIONAL SUISSE
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

SIB
Swiss Institute of
Bioinformatics