

## Avis de Soutenance

Monsieur Mohamad AL HAJJ

Biologie-Santé - Spécialité Oncologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

*Rôle des pores nucléaires dans la réparation des lésions réplcatives aux télomères*

dirigés par Madame Marie-noelle SIMON et Monsieur Vincent GELI

Soutenance prévue le **vendredi 13 décembre 2024** à 14h00

Lieu : 27 bd lei roure, 13009, Marseille

Salle : Bibliothèque

### Composition du jury proposé

Mme Marie-Noëlle SIMON	Centre de recherche en cancérologie de Marseille	Directrice de thèse
Mme Karine DUBRANA	François Jacob Institute of biology	Rapporteure
M. Benoit PALANCADE	Institute Jacques Monod	Rapporteur
Mme Luisa LAURETI	Centre de recherche en cancérologie de Marseille	Examinatrice
M. Stefano MATTAROCCI	François Jacob Institute of biology	Examineur

**Mots-clés :** Telomere,Pore nucleaire,Stress replicative,RPA,Recombinaison,Sénescence

### Résumé :

Les télomères sont des structures nucleoprotéiques situées aux extrémités des chromosomes, composées de répétitions riches en guanine et associées à des protéines formant le complexe Shelterin. Leur maintien dépend de la télomérase. En son absence, les télomères raccourcissent progressivement en raison du problème de réplcation des extrémités, conduisant à la sénescence réplcative, un mécanisme puissant de suppression des tumeurs. Les cellules peuvent échapper à la sénescence par la réactivation de la télomérase (85 % des cancers) ou l'allongement alternatif des télomères (ALT) (15 %). Une autre source de dysfonctionnement des télomères, moins bien décrite, provient du stress de réplcation, causé par des facteurs tels que les protéines fortement liées à l'ADN, les structures G-quadruplexes ou l'activité transcriptionnelle. Si ce stress n'est pas correctement résolu, il peut entraîner des cassures de l'ADN et un raccourcissement abrupt des télomères. Notre laboratoire a montré qu'en absence de télomérase, les fourches de réplcation bloquées aux télomères se relocalisent vers le complexe des pores nucléaires (NPCs), favorisant ainsi leur réplcation, bien que les mécanismes sous-jacents soient encore mal compris. Au cours de ma thèse, j'ai étudié comment les fourches de réplcation bloquées aux télomères se relocalisent vers les NPCs. J'ai utilisé une séquence télomérique interstitielle (ITS) insérée dans le génome pour éviter la complexité des télomères naturels et l'interférence de la télomérase. Une séquence modifiée (ITS-mod) dépourvue du site de liaison canonique de Rap1 a été utilisée comme contrôle. Le clivage endogène de la chromatine (ChEC) a confirmé une liaison réduite de Rap1 à l'ITS-mod par rapport à l'ITS. J'ai démontré que Cdc13 et la protéine de réplcation A (RPA) se lient à l'ITS, mais pas à l'ITS-mod, suggérant une accumulation d'ADN simple brin aux fourches bloquées. La

liaison de Rap1 est corrélée à la fragilité de l'ITS et à l'instabilité de sa longueur, suggérant que la liaison de Rap1 est le principal obstacle à la progression de la fourche de réplication dans les répétitions télomériques. Le ChEC a montré que l'ITS et les télomères naturels interagissent avec les NPCs. La localisation des ITS aux NPCs nécessite les protéines Ctf18, Scc2, et Mrc1, impliqués dans le chargement de novo des cohésines pendant la réplication, ainsi que le facteur de « silencing » Sir4. La résection et la SUMOylation sont également des acteurs clés dans ce processus. En parallèle, j'ai étudié l'effet de mutations affectant les modifications post-traductionnelles et les propriétés de liaison à l'ADN de RPA sur la relocalisation vers les NPCs et sur la cinétique de sénescence. J'ai montré que le rôle de Rtt105 au cours de la sénescence va au-delà de sa fonction dans l'import de RPA et pourrait impliquer la régulation du mode de liaison de RPA à l'ADN simple brin. Dans ce sens, j'ai aussi montré que la sous-unité Rfa2 de RPA est impliquée dans le maintien des télomères au cours de la sénescence. Enfin, j'ai montré que la liaison RPA et, dans une moindre mesure Rtt105, jouent un rôle dans la relocalisation des ITS vers les NPCs, ceci indépendamment du niveau de SUMOylation de RPA. Nous proposons un modèle dans lequel le mode de liaison de RPA, médié par Rtt105, pourrait être requis pour un redémarrage efficace, au niveau des NPCs, des fourches de réplication. Enfin, j'ai initié une approche de marquage de proximité médiée par la biotine en utilisant Cdc13 comme appât pour cartographier l'interactome des fourches de réplication bloquées aux télomères dans différentes conditions. Cette approche a permis d'identifier plusieurs protéines télomériques, de réplication de l'ADN, de réparation, ainsi que des composants des NPC.

LE DOYEN  
Georges LEONETTI