

# Avis de Soutenance

Madame Chaïne BOUABBOUNE

Oncologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

*Dynamique de réplication des séquences télomériques chez la levure Schizosaccharomyces pombe*

dirigés par Monsieur Stéphane COULON

Soutenance prévue le **mardi 08 avril 2025** à 14h00

Lieu : Institut Paoli-Calmettes 232 Bd de Sainte-Marguerite 13009 Marseille

Salle : de conférence IPC2

## Composition du jury proposé


|                        |  |                    |
|------------------------|--|--------------------|
| M. Stéphane COULON     | AMU - CRCM   | Directeur de thèse |
| M. Stefano MATTAROCCHI | Institut de biologie François Jacob CEA-Jacob                  | Rapporteur         |
| Mme Sylvie TOURNIER    | Université Paul Sabatier, Centre de Biologie Intégrative (CBI) | Rapporteuse        |
| M. Mauro MODESTIE      | CRCM   | Président          |
| M. Pierre-Marie DEHE   | AMU - INSERM- CRCM   | Invité             |

**Mots-clés :** télomère, réplication, instabilité génomique,,

## Résumé :

Les télomères sont des structures nucléoprotéiques présentes aux extrémités des chromosomes. Ils sont constitués de séquences répétées d'ADN qui sont protégées par un ensemble protéique appelé shelterin. Ces séquences raccourcissent progressivement et naturellement à chaque cycle de réplication de l'ADN, un phénomène connu sous le nom de sénescence réplivative. Un raccourcissement prématuré des télomères peut être à l'origine de maladies génétiques nommées téloméropathies telles que la dyskératose congénitale, l'anémie aplasique et la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI)... Les télomères sont des régions difficiles à répliquer, car de nombreux obstacles entravent la progression de la fourche de réplication. Ces barrières génèrent un stress réplivatif important et des accidents survenant lors de la réplication peuvent provoquer la perte de séquences télomériques et accélérer leur raccourcissement. Depuis une dizaine d'années, des études ont montré que les protéines du complexe de la shelterin participaient activement à la réplication des télomères pour en faciliter le processus et en assurer le maintien. C'est le cas notamment de la protéine TRF1 et aussi de POT1-TPP1 (Sfeir et al., 2009; Zimmermann et al., 2014; Pinzaru et al., 2016), cependant les mécanismes précis dans lesquels ces facteurs sont impliqués restent encore à élucider. Au laboratoire, nous utilisons le modèle de levure Schizosaccharomyces pombe car les télomères sont structurellement semblables aux télomères humains. Les mécanismes qui en assurent leur maintien sont aussi assez conservés de la levure à l'homme. Mes recherches se sont

focalisées sur le rôle de Pot 1 et de Taz1, l'homologue de TRF1, dans la réplication des séquences terminales. Pour étudier le rôle de Pot1 dans la réplication des régions terminales, nous avons utilisé, un mutant hypomorphe et thermosensible pot1-1, décrit précédemment par le groupe de Julie Cooper. Nous avons montré que pot1-1 altère la réplication de l'ADN terminal et entraîne l'accumulation d'ADN simple brin. À température restrictive, cette mutation conduit à la perte complète de l'ADN télomérique. Dans les cellules pot1-1, nous avons constaté une diminution du recrutement de Stn1, un facteur associé à Ten1, qui est important pour recruter Pola (Pol1) et initier de la synthèse d'ADN. La surexpression de Stn1 et de la sous-unité catalytique de Polrestaure partiellement les pertes de fonction de pot1-1. Nos résultats suggèrent que Pot1 par l'intermédiaire de son partenaire Tpz1 participe au recrutement de Stn1-Ten1 pour initier la synthèse d'ADN au niveau du brin retardé (lagging strand). Ces résultats sont en accord avec nos travaux précédents (Vaurs et al., 2023). Un autre axe de mon projet de thèse a porté sur l'étude de la fonction de Taz1 et de son mode de régulation dans la réplication des séquences terminales. Nous avons démontré que le domaine de dimérisation de Taz1 est phosphorylé par Rad3 (ATR) spécifiquement en fin de phase S. Nous avons montré aussi que cette phosphorylation module la capacité de Taz1 à se dimériser et à se lier efficacement aux régions télomériques et subtélomériques. Des expériences de ChIP ont révélé que le recrutement de Taz1 est contrôlé en fonction du cycle cellulaire. En effet, nous avons observé que Taz1 est recruté aux séquences terminales en phase S et correspond au recrutement de Pol  $\alpha$  suggérant que Taz1 joue un rôle dans le processing du fragment d'Okazaki. L'analyse des interacteurs de Taz1 par spectrométrie de masse a permis d'identifier Lig1, la ligase responsable de la liaison des fragments d'Okazaki entre eux. Ces résultats restent encore à confirmer, mais ils suggèrent que la fonction de Taz1 serait de participer à la synthèse et la maturation du brin retardé pendant la réplication des séquences terminales. En conclusion, nos résultats apportent une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires impliquant les protéines télomériques dans la réplication de l'ADN terminal.

LE DOYEN  
  
Georges LEONETTI