Avis de Soutenance

Madame Mathilde BOUVET

Biologie-Santé - Spécialité Oncologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Activité de RAD52 dans la Recombinaison homologue chez l'Homme

dirigés par Monsieur Mauro MODESTI

Thèse soutenue le ***lundi 18 décembre 2023*** à 14h00
Lieu : CRCM 27 Boulevard Leï Roure CS30059 13273 Marseille Cedex 09 France
Salle : Bibliothèque du CRCM

Composition du jury proposé

M. Mauro MODESTI	Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM)	Directeur de thèse
M. Laurent MALOISEL	Institut de Biologie François Jacob	Examinateur
Mme Pauline DUPAIGNE	Gustave Roussy	Rapporteure
M. Fabrice FLEURY	Université de Nantes - Unité des Sciences Biologiques et Biotechnologiques USBB (US2B)	Rapporteur

Mots-clés : RAD52,Recombinaison homologue,réparation de l'ADN,cassure double-brin,protéine médiatrice,

Résumé :

RAD52 est une protéine impliquée dans les voies de réparation des cassures double-brins (CDBs) de l'ADN. En 2011, est découverte son implication dans une voie de réparation des CDB par recombinaison homologue (RH) chez l'Homme. Toutefois, son activité dans cette voie doit encore être clarifiée. Mon projet de thèse avait pour objectif de déterminer les domaines dans la séquence de RAD52 impliqués dans son activité dans la RH. À cette fin, ce projet comprenait comme expérience clé la complémentation de cellules humaines déficientes en RAD52 et contenant un rapporteur d'activité de la RH, le DR-GFP, avec des variants de RAD52 mutés dans les domaines potentiellement impliqués dans cette activité. L'effet de l'expression de ces variants sur l'activité du DR-GFP était ensuite étudié. Suite à mes essais de complémentation des clones déficients en RAD52, je n'ai pas observé d'effet sur l'activité du DR-GFP, empêchant l'étude des sites de RAD52 impliqués dans la RH en utilisant ces cellules. Toutefois, ces essais m'ont permis de démontrer un effet dominant-négatif de la surexpression de RAD52 sur la RH rapportée par le DRGFP. Cet effet pourrait être la cause de l'incapacité à complémenter les clones déficients en RAD52. J'ai pu exploiter cet effet comme nouvelle approche pour déterminer les sites de RAD52 impliqués dans la RH. Mes résultats suggèrent que RAD52 pourrait être une protéine médiatrice dans la RH, mais également que ses propriétés de recombinaison de l'ADN seraient impliquées dans son activité. Mes

travaux apportent des perspectives de recherches sur le spectre d'activité de RAD52 chez l'Homme et sur les facteurs régulant les voies de réparation de l'ADN. Mots clés : RAD52, recombinaison homologue, réparation de l'ADN, cassure double-brin

LE DOYEN

Georges LEONETTI

Résumé

RAD52 est une protéine impliquée dans les voies de réparation des cassures double-brins (CDBs) de l'ADN. En 2011, est découverte son implication dans une voie de réparation des CDB par recombinaison homologue (RH) chez l'Homme. Toutefois, son activité dans cette voie doit encore être clarifiée.

Mon projet de thèse avait pour objectif de déterminer les domaines dans la séquence de RAD52 impliqués dans son activité dans la RH. À cette fin, ce projet comprenait comme expérience clé la complémentation de cellules humaines déficientes en RAD52 et contenant un rapporteur d'activité de la RH, le DR-GFP, avec des variants de RAD52 mutés dans les domaines potentiellement impliqués dans cette activité. L'effet de l'expression de ces variants sur l'activité du DR-GFP était ensuite étudié.

Suite à mes essais de complémentation des clones déficients en RAD52, je n'ai pas observé d'effet sur l'activité du DR-GFP, empêchant l'étude des sites de RAD52 impliqués dans la RH en utilisant ces cellules. Toutefois, ces essais m'ont permis de démontrer un effet dominant-négatif de la surexpression de RAD52 sur la RH rapportée par le DRGFP. Cet effet pourrait être la cause de l'incapacité à complémenter les clones déficients en RAD52. J'ai pu exploiter cet effet comme nouvelle approche pour déterminer les sites de RAD52 impliqués dans la RH. Mes résultats suggèrent que RAD52 pourrait être une protéine médiatrice dans la RH, mais également que ses propriétés de recombinaison de l'ADN seraient impliquées dans son activité. Mes travaux apportent des perspectives de recherches sur le spectre d'activité de RAD52 chez l'Homme et sur les facteurs régulant les voies de réparation de l'ADN.

Mots clés : RAD52, recombinaison homologue, réparation de l'ADN, cassure double-brin

Abstract

RAD52 is a protein involved in DNA double-strand break (DSB) repair pathways. In 2011, it was found to be involved in the homologous recombination (HR) repair pathway in humans. However, its activity in this pathway has yet to be clarified.

The aim of my thesis project was to determine the domains in the RAD52 sequence involved in its activity in HR. To this end, the key experiment of this project was the complementation of RAD52-deficient human cells containing an HR activity reporter, the DR-GFP, with RAD52 variants mutated in domains potentially involved in this activity. The effect of expression of these variants on DR-GFP activity was then studied.

Following my assays to complement RAD52-deficient clones, I observed no effect on DR-GFP activity, preventing the study of RAD52 sites involved in HR using these cells. However, these assays allowed me to demonstrate a dominant-negative effect of RAD52 overexpression on HR reported by DRGFP. This effect could be the cause of the inability to complement RAD52-deficient clones. I was able to exploit this dominant-negative effect as a new approach to determine the RAD52 sites involved in HR. My results suggest that RAD52 may be a mediator protein in HR, but also that its DNA recombination properties may be involved in its activity. My work opens up new avenues of research into the spectrum of RAD52 activity in humans and the factors regulating DNA repair pathways.

Keywords : RAD52, homologous recombination, DNA repair, double-strand break