

Avis de Soutenance

Madame Rima KOCHMAN

Biologie-Santé - Spécialité Oncologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Rôle de la Protéine de Réplication A dans le maintien des télomères chez l'homme et le lien avec les téloméropathies

dirigés par Monsieur Stéphane COULON

Soutenance prévue le **mercredi 11 décembre 2024** à 14h00

Lieu : Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM) 27 boulevard lei roure Batiment Z
13009 Marseille

Salle : Bibliothèque

Composition du jury proposé

M. Stéphane COULON	Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM)	Directeur de thèse
Mme Pascale BERTRAND	CEA Jacob	Rapporteuse
M. Cyril RIBEYRE	IGMM (institut de génétique moléculaire de Montpellier) CNRS-UMR 5535	Rapporteur
M. Patrick REVY	Institut Imagine	Examineur
Mme Frederique MAGDINIER	Aix-Marseille Université - INSERM, U 1251	Président

Mots-clés : Protéine de réplication A, Télomère, Réplication des télomères, Téloméropathies, RFWD3,

Résumé :

Les télomères sont des structures nucléoprotéiques localisées aux extrémités des chromosomes et participent à la stabilité du génome. Ils sont constitués de séquences répétées d'ADN qui raccourcissent à chaque division cellulaire pendant la phase de réplication. Lorsqu'ils sont critiquelement courts, les télomères sont alors reconnus par les voies de réparation de l'ADN et les cellules rentrent en sénescence ou en apoptose. Ces mécanismes sont liés au vieillissement, certaines maladies génétiques et le cancer. Chez certains individus, le raccourcissement prématuré des télomères provoque des maladies génétiques appelées téloméropathies comme la dyskératose congénitale, l'anémie aplasique et la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI)..., Des mutations dans des gènes liés à la biologie des télomères sont responsables de ces téloméropathies. Nous avons identifiés chez des patients atteints d'IPF et avec des télomères anormalement courts des mutations dans les gènes RPA. Le complexe RPA est un hétérotrimère (RPA1-2-3), qui lie et protège l'ADN simple brin (ADNsb) lors de la réplication, la recombinaison et la réparation de l'ADN. Plus particulièrement, nous avons identifié une variation rare hétérozygote (c.767A>G;p.Y256C) dans RPA2 chez deux patients non apparentés avec des télomères courts qui développaient une FPI et d'autres signes cliniques caractéristiques des téloméropathies. L'objectif de ma thèse était de

montrer si cette variation est bien la cause de la maladie et de comprendre les mécanismes qui sont impactés. Dans un premier temps, nous avons montré que cette mutation n'altère pas les propriétés biochimiques in vitro du complexe RPA grâce aux protéines recombinantes. Dans un deuxième temps, nous avons introduit la mutation Y256C dans des lignées cellulaires RPE1 par CRISPR-Cas9 et j'ai entrepris la caractérisation de ces lignées. J'ai montré que ces lignées étaient sensibles à des agents génotoxiques tels que la mitomycine C et la bléomycine. J'ai également montré que cette mutation provoquait une accumulation de défaut télomériques et un raccourcissement des télomères. Ces résultats mettent en évidence l'existence d'un lien de causalité entre cette mutation et le dysfonctionnement des télomères. De plus, j'ai découvert que la mutation Y256C altère l'interaction entre RPA2 et RFWD3. RFWD3, une E3 ubiquitine ligase impliquée dans la voie Fanconi anémie, qui polyubiquitine RPA. Cette modification de RPA par RFWD3 promeut l'éviction de RPA lié à l'ADNsb et favorise le redémarrage de la fourche de réplication par recombinaison homologue (RH). Nous avons montré aussi la mutation Y256C altère l'ubiquitination de RPA par RFWD3 et en accord avec ces résultats j'ai montré que RPA s'accumule aux télomères. Il a été démontré que l'accumulation de RPA lié à l'ADNsb active la voie de signalisation ATR-CHK1. Malgré l'accumulation de RPA aux télomères, mes résultats ont montré que les niveaux de phosphorylation de RPA2 et CHK1 sont réduits et que l'efficacité de la voie RH était altérée dans les lignées RPE1RPA2-Y256C. Dans leur ensemble, ces résultats montrent que cette mutation altère l'interaction avec RFWD3 et le niveau d'ubiquitination de RPA, ce qui a pour conséquence une accumulation de RPA aux télomères. Dans ces conditions, les voies de RH et de signalisation de dommage à l'ADN (ATR-CHK1) sont déficientes ce qui entraîne des défauts et un raccourcissement des télomères. En conclusion, mes résultats mettent en lumière le mécanisme par lequel la mutation Y256C affecte la stabilité des télomères, identifiant ainsi RPA2 comme un nouveau facteur génétique impliqué dans les téloméropathies.

LE DOYEN

Georges LEONETTI