

TITRE DU PROJET : Rôle du nucléo-adhésome dans la transition épithélio-mésenchymateuse

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse¹ (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :

Nom : Peixoto

Prénom : Paul

Co-directeur de thèse éventuel :

Nom : Delage-Mourroux

Prénom : Régis

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu) UMR Right, INSERM Unité 1098, Groupe AETIC, dirigé par le Pr Michaël Guittaut
- localisation Université de Franche-Comté, UFR ST, Bâtiment DF, 16 route de Gray, 25030 Besançon Cedex
- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu : Dr Paul Peixoto, Pr Régis Delage Mourroux
- adresse courriel du contact scientifique paul.peixoto@univ-fcomte.fr
- description du projet (2 pages maximum)

La transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) est un mécanisme plastique permettant à une cellule épithéliale d'acquérir des caractéristiques mésenchymateuses de migration et d'invasion. Elle est directement impliquée dans le processus métastatique. Le but de cette étude est d'étudier le rôle de l'épigénétique lors de l'induction de la TEM. **Nous avons dans un premier temps mis en évidence l'influence prédominante de la marque répressive H3K27me3 (triméthylation de l'histone H3 en position K27), dans le contrôle de l'expression des gènes durant la TEM.** Nous avons montré que pour une grande proportion de gènes, la variation de cette marque était corrélée avec l'expression du gène (abondance importante de cette marque sur les promoteurs pour lesquels l'expression des gènes était réprimée et inversement).

Nous avons ensuite montré que **l'enzyme Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2)**, responsable de la triméthylation de l'histone H3K27 et de la **Lysine Demethylase 6B (KDM6B)**, responsable de sa déméthylation sont toutes deux surexprimées dans les tissus en TEM chez les patients atteints de cancers du poumon non à petites cellules (NSCLC). Ces deux enzymes étant incapables de reconnaître des séquences spécifiques de l'ADN, la suite de ce projet s'est focalisé sur l'identification des partenaires protéiques qui recrutent ces protéines au niveau des promoteurs des gènes lors de la TEM.

¹ ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

De manière très surprenante pour EZH2 et KDM6B, l'induction de la TEM induit un enrichissement **significatif en protéines localisées dans les points focaux d'adhérence**. Cette observation nous a paru d'autant plus intéressante que Bryon et ses collaborateurs ont publié un article princeps dans la revue Nature Communication décrivant le « nucléo-adhésome ». Cette analyse a mis en exergue une surreprésentation des protéines du méta-adhésome au niveau du noyau suggérant des fonctions nucléaires non canoniques à ces protéines. Nous essayons maintenant de comprendre pourquoi certains acteurs du méta-adhésome interagissent avec les protéines EZH2 et KDM6B en condition basale mais aussi lors de l'induction de la TEM. Plus largement et indépendamment d'EZH2 et KDM6B, nous souhaitons établir le rôle du nucléo-adhésome lors de la TEM. L'étude de ces protéines nous semble particulièrement intéressante car lors de l'induction de la TEM il se produit une réorganisation des points focaux d'adhérence. Cette réorganisation pourrait entraîner par la même occasion un changement de compartiment cellulaire de protéines qui migreraient alors vers le noyau pour acquérir de nouvelles fonctions.

Ainsi, afin d'établir une cartographie fine de l'ensemble des protéines du nucléo-adhésome qui migrent vers le noyau lors de la TEM, nous réaliserons un fractionnement subcellulaire de cellules A549 préalablement traitées ou non au TGF β -TNF α (Conditions capables d'induire la TEM dans ces cellules). L'analyse par spectrométrie de masse quantitative sera réalisée en collaboration avec l'équipe du Dr Christine SCHAEFFER REISS au Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio-Organique à Strasbourg. Nous sélectionnerons certaines protéines identifiées sur base de leur significativité, leur fonction et/ou leur lien avec la TEM et tenterons de déterminer les protéines de l'épigénétique qui leur sont associées.

L'inhibition globale des enzymes de l'épigénétique ne peut être envisagée comme option thérapeutique pour bloquer la TEM, l'utilisation d'inhibiteur chimique induisant partiellement cette transition. Bien que les enzymes de l'épigénétique soient des cibles intéressantes en cancérologie, peu d'épidrogues sont utilisées en clinique. Ceci s'explique notamment par i) la difficulté à identifier des inhibiteurs sélectifs pour certaines de ces protéines ; ii) la redondance de fonction qui permet de palier à l'inhibition d'une enzyme par d'autres membres de la famille comme par exemple pour les histone désacétylases (HDACs) qui ont des substrats communs ; iii) le manque de connaissance sur l'effet global de ces enzymes au niveau de la cellule (aussi bien sur le génome que sur leur capacité à modifier d'autres protéines) et donc la difficulté de cibler une fonction spécifique de ces enzymes. A partir de ce constat, nous **essaierons de développer des petites molécules capables de bloquer la formation des complexes protéines du nucléo-adhésome/enzyme de l'épigénétique**. Ainsi, ce projet a aussi pour but de mettre en lumière un modèle élégant de transduction du signal dans lequel les protéines de l'adhésome contrôlent l'expression des gènes par la formation de complexes régulateurs au niveau de la chromatine. **Nous souhaitons aussi proposer de nouvelles stratégies thérapeutiques innovantes basées sur l'inhibition ciblée de l'activité d'enzyme de l'épigénétique**.

- Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat) :

Reliquat financement Ligue contre le cancer 15 000 euros (acquis en 2023), financement fond propre plateforme EpiGENExp et équipe de recherche, financement chrysalide 2023 (9000 euros), Demande ligue contre le cancer à venir.

- connaissances et compétences requises : bases en biologie moléculaire et cellulaire.
Techniques utilisées en routine : qRT-PCR, Western blot, Immunoprécipitation.

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

La TEM est un mécanisme plastique permettant à une cellule épithéliale d'acquérir des caractéristiques mésenchymateuses de migration et d'invasion. Elle est directement impliquée dans le processus métastatique. Le but de cet axe est d'étudier le rôle de l'épigénétique lors de l'induction de la TEM.

Nous avons déjà démontré le rôle des enzymes Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2), responsable de la triméthylation de l'histone H3K27 et de la Lysine Demethylase 6B (KDM6B) dans la TEM. L'étude des partenaires protéiques nucléaires de ces enzymes nous a permis d'identifier des acteurs de l'adhésome. Ainsi, ces protéines normalement retrouvées au niveau des points d'adhérences sont capables de migrer vers le noyau et contrôler ainsi l'expression des gènes. La suite de ce projet aura pour but d'identifier l'ensemble des protéines de l'adhésome capable de migrer vers le noyau lors de la TEM et de définir leur fonction dans le contrôle de l'expression des gènes.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :

Biologie

Santé, médecine humaine, vétérinaire

Mots clés : Epigénétique, transition épithélio-mésenchymateuse, adhésome