

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement :
Titre de la thèse : Conséquences fonctionnelles des mutations de <i>SF3B1</i> dans le cancer : exploration de la modulation de l'épissage comme piste thérapeutique.		3 mots-clés : épissage des ARN ; cancer ; SF3B1
Unité/équipe encadrante : UMR1078 / équipe Astre		
Directeur de thèse : Dr Delphine Bernard		N° de tél : 02 98 01 80 82 Mail : delphine.bernard@univ-brest.fr
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u></p> <p>Environ 95% des gènes codants chez l'humain sont soumis à un épissage alternatif, un mécanisme complexe hautement régulé qui permet de diversifier le protéome en créant de multiples protéines à partir d'un même gène. Les altérations de l'épissage alternatif sont fréquentes dans le cancer, et sont souvent associées à la présence de mutations somatiques de gènes codant des composants ou des régulateurs de la machinerie d'épissage. Parmi ces gènes, <i>SF3B1</i> (<i>splicing factor 3B subunit 1</i>) est le plus fréquemment muté dans le cancer, notamment dans les néoplasies myélodysplasiques (SMD), qui sont caractérisées par une myélopoïèse inefficace et un risque de transformation en leucémie myéloïde aigue. Dans les SMD, les mutations de <i>SF3B1</i> sont associées à la présence de sidéroblastes en couronne (SC) dans la moelle osseuse, qui signe un défaut de métabolisme du fer dans le lignage érythroïde. Les mutations de <i>SF3B1</i> seraient fondatrices, en intervenant très tôt dans le développement de la maladie. Les recherches sur SF3B1 sont en pleine expansion à l'échelle internationale, comme en témoigne le nombre important d'articles publiés dans le domaine. Néanmoins, les mécanismes moléculaires en jeu restent encore largement incompris. Le gène <i>SF3B1</i> est muté dans plusieurs cancers pour lesquels les options thérapeutiques demeurent limitées (SMD, cancers du pancréas, du sein, mélanome uvéal), ce qui souligne l'intérêt de rechercher de nouvelles pistes thérapeutiques. Ce projet de recherche a récemment obtenu le soutien du comité régional de la Ligue contre le cancer.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u></p> <p>Les mutations de <i>SF3B1</i> associées au cancer conduisent à un remodelage d'une partie du transcriptome, dont les conséquences fonctionnelles restent à explorer. Elles entraînent la production de certains de transcrits alternatifs qui seront dégradés par la machinerie de contrôle qualité des ARNm ou qui conduiront à la formation de nouvelles isoformes protéiques. Parmi les transcrits alternatifs produits dans un contexte <i>SF3B1</i>^{muté}, on peut faire l'hypothèse que certains d'entre eux jouent un rôle majeur dans le développement de la maladie. Leur étude semble donc essentielle pour mieux comprendre l'impact des mutations de <i>SF3B1</i> dans la physiopathologie des SMD, et à plus long terme proposer de nouvelles pistes thérapeutiques.</p> <p>Ce projet de thèse vise à mieux comprendre les conséquences fonctionnelles des mutations du gène <i>SF3B1</i>, notamment sur l'épissage et le métabolisme du fer, et à explorer de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur la modulation ciblée de l'épissage de gènes d'intérêt. Nous proposons en particulier de développer des thérapies basées sur l'ARN pour (axe 1) corriger des événements d'épissage qui permettraient de diminuer l'anémie dans les SMD avec mutations de SF3B1, ou (axe 2) générer des profils d'épissage qui sensibiliseraient les cellules mutées pour <i>SF3B1</i> à des inhibiteurs pharmacologiques ou qui induiraient une mort cellulaire (léthalité synthétique).</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u></p> <p>Axe 1- Dans la continuité des travaux de l'équipe, nous chercherons à mieux comprendre les mécanismes moléculaires contribuant au défaut du métabolisme du fer et d'érythropoïèse dans les SMD-SC, et à ceux plus généraux contribuant à la physiopathologie des SMD. L'étude comparée des données de RNAseq et de protéomique générées dans les mêmes cellules (<i>SF3B1</i> muté versus sauvage) nous a permis d'identifier des voies et des gènes d'intérêt, dont nous chercherons à moduler l'expression ou l'épissage pour tester leur implication éventuelle dans la physiopathologie des SMD. Nous disposons de plusieurs modèles cellulaires, ainsi que de cellules primaires issues de moelle osseuse de patients SMD grâce à l'accès facilité à la collection du CRB du CHU de Brest.</p> <p>Axe 2- Nous chercherons à exploiter les vulnérabilités des cellules <i>SF3B1</i> mutées pour explorer une nouvelle stratégie thérapeutique visant à éliminer le clone tumoral. Nous nous appuierons sur les données de la littérature et de l'équipe pour établir une liste de gènes candidats dont l'altération de l'épissage pourrait conduire à une létalité synthétique en combinaison avec les mutations de <i>SF3B1</i>.</p> <p>Pour les deux axes, nous utiliserons des oligonucléotides anti-sens (OAS) qui se fixent à des séquences canoniques ou régulatrices de l'épissage. Nous introduirons ces OAS dans des lignées et des cellules primaires (<i>SF3B1</i> muté et sauvage) pour étudier leurs effets sur des phénotypes d'intérêt à l'échelle cellulaire (Axe 1) ou sur la prolifération et la mort cellulaire, seuls ou en association avec des inhibiteurs pharmacologiques (Axe 2).</p> <p>En fonction des résultats obtenus au cours de la première année de thèse, l'un des axes pourra être davantage développé.</p>		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u></p> <p>Master 2 de Génétique, Biologie Moléculaire, Cancérologie ou Biologie cellulaire. Compétences requises : techniques de biologie moléculaire, culture cellulaire et biochimie. Etre sensibilisé aux analyses du transcriptome par RNAseq et aux outils bioinformatiques.</p>		
<p><u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u></p> <p>SA. Mian, C. Philippe, E. Maniati, P. Protopapa, T. Bergot, M. Piganeau, T. Nemkov, D. Di Bella, V. Morales, AJ. Finch, A. D'Alessandro, K.</p>		

Bianchi, J. Wang, P. Gallipoli, S. Kordasti, AS. Kubasch, M. Cross, U. Platzbecker, DH. Wiseman, D. Bonnet, DG. Bernard, JG. Gribbe, K. Rouault-Pierre. Vitamin B5 and Succinyl-CoA improve ineffective erythropoiesis in SF3B1 mutated myelodysplasia. *Sci Transl Med.* 2023 Mar;15(685):eabn5135. doi: 10.1126/scitranslmed.abn5135. Epub 2023 Mar 1.

Douet-Guilbert N, Soubise B, Bernard DG, Troadec MB. Cytogenetic and Genetic Abnormalities with Diagnostic Value in Myelodysplastic Syndromes (MDS): Focus on the Pre-Messenger RNA Splicing Process. *Diagnostics (Basel).* 2022 Jul 7;12(7):1658. doi: 10.3390/diagnostics12071658.

Bergot T, Lippert E, Douet-Guilbert N, Corcos L and Bernard DG. Human cancer-associated SF3B1 mutations lead to a splicing modification of its own RNA. *Cancers (Basel).* 2020 Mar 11;12(3). pii: E652. doi: 10.3390/cancers12030652

Collaborations nationales et internationales :

Dr P. Stirling (British Columbia Cancer Research Centre, Vancouver, Canada)

Dr K. Rouault-Pierre (Queen Mary University, Londres, RU)