



UNIL | Université de Lausanne

Faculté de biologie
et de médecine

Soutenance de thèse

Madame Lucia VINCENZETTI

Titulaire d'un Master en biologie de l'Université de Camerino, Italie

Soutiendra en vue de l'obtention du grade de
Doctorat ès sciences de la vie (PhD)
de l'Université de Lausanne

sa thèse intitulée :

**DNA methylation dynamics in the functional
regulation of human T lymphocytes**

Directrice de thèse :

Madame la Docteure Silvia MONTICELLI

Cette soutenance aura lieu le

Mercredi 19 décembre 2018 à 13h30

Salle F302, bâtiment F, département de biochimie, 1066 Epalinges

L'entrée est publique

Prof. Niko GELDNER
Directeur de l'Ecole Doctorale

Chez les mammifères, la méthylation en 5' de la base cytosine (5mC) de l'ADN génomique est intimement liée à la régulation de l'expression des gènes. Malgré sa stabilité et son héritabilité au cours des divisions cellulaires, la suppression de 5mC est requise pour l'activation de programmes de développement. Une fois déposée sur le génome, 5mC peut être éliminée soit par dilution passive lors de la réplication de l'ADN soit par des procédés actifs caractérisés par l'oxydation enzymatique du groupe méthyl générant la 5'-hydroxyméthylcytosine (5hmC) qui peut persister en tant que tel ou bien subir ultérieurement oxydation et élimination enzymatique. Toutefois, la contribution relative de chacun de ces mécanismes dans le contrôle épigénétique des systèmes biologiques évolutifs demeure incertaine. Dès lors, l'objectif de cette thèse est d'étudier la contribution des mécanismes actifs et passifs de la suppression de 5mC et 5hmC dans un système cellulaire. A cette fin, nous avons utilisé des lymphocytes humains T « helper » (T_H) primaires dans deux états cellulaires distincts: les cellules T naïves quiescentes proliférant rarement ou très lentement et les cellules T activées par l'antigène et proliférant vigoureusement. Nous avons établi que la 5hmC est dynamiquement modulée durant l'activation des cellules T, les cellules naïves non stimulées maintenant des niveaux de 5hmC plus élevés que ceux de tous les autres lymphocytes T ayant rencontré leur antigène, mettant ainsi en évidence que la déméthylation de l'ADN est un procédé lié à l'activation et non pas à une sous-population de cellules T effectrices spécifiques. Grâce à des composés inhibant la méthylation ou augmentant la déméthylation, nous avons pu montrer une capacité accrue des cellules à produire des cytokines effectrices, suggérant ainsi que les procédés relatifs à la méthylation de l'ADN sont requis pour une différenciation efficace des cellules T effectrices et mémoire. Après optimisation des méthodes pour découpler l'activation de la prolifération, les lymphocytes T naïfs ont montré une perte significative de la 5hmC génomique lors de l'activation et ce même en totale absence de prolifération, pointant vers un rôle des procédés actifs de déméthylation lors de l'activation des cellules T naïves. D'autre part, la dilution dépendant de la réplication de l'ADN est le procédé principal menant à la réduction de la 5hmC pour les cellules hautement prolifératives et déjà différenciées. Enfin, en analysant l'entier du génome, nous avons découvert que ces modifications sont dynamiques durant l'activation des cellules T et que 5hmC en particulier semble être associée à des régions régulatrices de gènes de la réponse immunitaire initiale. Nos résultats suggèrent que l'usage des mécanismes actifs vs passifs de la déméthylation de l'ADN dépend de l'état d'activation et de différenciation. Plus précisément, les mécanismes actifs sont impliqués sélectivement chez les lymphocytes T naïfs avant l'entrée dans le cycle cellulaire afin de maintenir les régions régulatrices prêtes pour une réponse rapide alors que la dilution passive des cytosines modifiées dépendant de la réplication opère principalement chez les lymphocytes T mémoire.