



UNIL | Université de Lausanne

Faculté de biologie
et de médecine

Soutenance de thèse

Madame Angela VOLORIO

Médecin diplômée de la Confédération Suisse

Soutiendra en vue de l'obtention du grade de
Doctorat en médecine et ès sciences (MD-PhD)
de l'Université de Lausanne

sa thèse intitulée :

**Fonctions des amplificateurs de séquences
microsatellites à motif GGAA dans
le sarcome de Ewing**

Directeur de thèse :

Monsieur le Professeur Ivan STAMENKOVIC

Cette soutenance aura lieu le

Mercredi 16 octobre 2019 à 16h30

Auditoire Spengler, Institut universitaire de Pathologie ,
Rue du Bugnon 25, 1011 Lausanne

L'entrée est publique

Prof. John Prior
Vice-Directeur de l'École Doctorale

08.10.2019

Candidate : Angela Volorio, Département de pathologie expérimentale

Titre : Fonctions des amplificateurs de séquences microsatellites à motif GGAA dans le sarcome de Ewing

RESUME – GRAND PUBLIC

Le sarcome de Ewing est le deuxième cancer pédiatrique le plus fréquent. Il est caractérisé par des cassures spécifiques de chromosomes appelées translocations qui donnent naissance à un nouveau gène codant pour une protéine chimérique appelée EWS-FLI1. En présence d'EWS-FLI1, de nombreux gènes sont activés et constituent une signature typique de la maladie. Au début de ma thèse, le mode principal d'action d'EWS-FLI1 reposait sur le modèle selon lequel il reconnaît des séquences d'ADN répétitives dans le noyau de la cellule appelées microsatellites contenant le motif GGAA qu'il est alors capable de fixer et d'activer pour former des amplificateurs de l'expression des gènes environnants. Ces régions d'ADN ne sont actives que dans cette maladie, néanmoins le lien direct entre leur activité et celle des gènes situés à proximité restait corrélatif. Afin de démontrer un lien de causalité, nous avons décidé d'utiliser la technique du CRISPR constitué d'une enzyme inactive, la dCas9 capable de se fixer à l'ADN, fusionnée à un domaine répressif appelé KRAB. En amenant ce complexe répressif dCas9-KRAB à proximité de ces régions d'ADN activées par EWS-FLI1 dans des cellules de Ewing, nous avons pu directement tester leurs fonctions. En étudiant l'ADN, ainsi que les niveaux d'ARN messagers et de protéines dans ces cellules, nous avons confirmé une inhibition des régions d'ADN ciblées suivi d'une forte diminution de l'expression des gènes environnants. Nous avons alors testé l'impact de ces manipulations sur la croissance tumorale *in vivo* en injectant dans des souris des cellules de Ewing dans lesquelles la surexpression de SOX2 a été préalablement réduite par le biais de l'inhibition d'une région à séquence microsatellite GGAA environnante et nous avons observé une croissance tumorale fortement altérée. Nos travaux permettent donc d'affirmer que EWS-FLI1 grâce à sa capacité à activer l'ADN au niveau de séquences microsatellites GGAA dans le génome régule de nombreux gènes dont certains jouent un rôle indéniable dans la survie tumorale. De plus, nous proposons une stratégie efficace pour l'étude des séquences répétitives qui peuvent être aussi bien impliquées dans des fonctions cellulaires normales notamment au cours du développement embryonnaire que dans plusieurs pathologies.