

Candidat :

Olivier Billant

Composition du jury :

Dr. Carl Mann, DR CEA, HDR

Dr. Laurent Maillat, CR1 Inserm, HDR

Dr. Jean-Yves Thuret, CR CEA, HDR

Pr. Cédric Le Maréchal, PU-PH UBO, HDR

Pr. Marc Blondel, PU-PH UBO, HDR

Dr. Cécile Voisset, CR1 Inserm, HDR

Utilisation de la levure *S. cerevisiae* pour déchiffrer l'effet dominant-négatif affectant la famille de gènes suppresseurs de tumeurs p53, p63 et p73.

p53 est un gène suppresseur de tumeur ubiquitaire qui empêche la prolifération de cellules malignes chez l'humain. En réponse à des dommages à l'ADN ou à des stress cellulaires, p53 entraîne l'arrêt du cycle cellulaire et initie la réparation des lésions du génome. Si ces réparations échouent, p53 déclenche alors la mort de la cellule endommagée par apoptose. De plus, p53 présente une forte homologie avec deux autres gènes suppresseurs de tumeur : p63 et p73. Ces trois protéines forment une famille de facteurs de transcription qui protège l'organisme contre le développement de tumeurs. Ce système de défense est enrichi par les multiples isoformes de p53, p63 et p73 dont les rôles sont encore mal décrits.

La neutralisation de la fonction de suppression de tumeur de p53, p63 et p73 est un mécanisme clef du développement tumoral auquel participent les mutants hotspots de p53 ainsi que certaines isoformes de p53, p63 et p73 par un effet dominant-négatif. Toutefois, de nombreuses zones d'ombre limitent notre compréhension de ce phénomène. Tout d'abord, l'identification des membres de la famille de p53 impliqués dans l'effet dominant-négatif reste incomplète. Ensuite, les mécanismes responsables de l'effet dominant-négatif sont débattus, suite notamment à l'émergence d'une nouvelle hypothèse impliquant un mécanisme de type prion. Enfin, l'effet dominant-négatif de la famille de p53 pourrait également être mis en cause dans d'autres types de pathologies comme les syndromes développementaux associés à des mutations de p63.

Au cours de cette thèse, j'ai étudié l'impact fonctionnel des mutations hotspots de p53 ainsi que celui des principales isoformes de la famille de p53 sur l'activité transcriptionnelle des isoformes actives de p53, p63 et p73. En utilisant comme modèle d'étude un eucaryote simple, la levure *S. cerevisiae*, nous avons pu démontrer que l'effet dominant-négatif des mutants et isoformes de la famille de p53 repose sur la formation d'hétéro-tétramères entre formes actives et inactives de ces protéines et n'implique pas de mécanisme de type prion. De plus nos travaux ont montré que certains mutants de p53 interfèrent avec les isoformes actives de p63 et p73 par un mécanisme partiellement basé sur la tétramérisation. En outre, nos résultats préliminaires suggèrent que les mutants de p63 impliqués dans les syndromes développementaux EEC, ADULT et NSCL¹ exercent également un effet dominant-négatif similaire à celui des mutants de p53. L'identification des mécanismes de l'effet dominant-négatif observé au sein de la famille de p53 permet d'envisager de nouvelles cibles thérapeutiques tant dans les cancers que dans certaines maladies rares du développement humain.

Using yeast *S. cerevisiae* to decipher the mechanisms of the dominant-negative effect observed within the p53, p63, p73 family of tumor suppressor genes.

p53 is a ubiquitous tumor suppressor gene that prevents damaged cells from proliferating. Following DNA damage or cellular stress, p53 induces a cell cycle arrest and initiates an attempt to repair the lesions. If the repair fails, p53 triggers the apoptosis of the cell. p53 shares a high homology with two other tumor suppressor genes: p63 and p73. Together they form a family of transcription factors, which are actively protecting the organism from tumor development. This defense network is enriched by multiple N-terminal and C-terminal isoforms of p53, p63 and p73.

The loss of p53, p63 and p73 tumor suppression function is a key step of cancer progression. Mutants of p53 and isoforms of p53, p63 and p73 often exhibit a dominant-negative behavior resulting in the loss of p53 tumor suppression activity. However, the extent of the dominant-negative effect within p53 family remains unclear. The mechanisms behind the dominant-negative effect are also debated due to

¹ EEC : ectrodactyly, ectodermal dysplasia and cleft lip/palate syndrome, ADULT : acro-dermato-ungual-lacrima-tooth syndrome, NSCL : non-syndromic cleft lip

the recent emergence of a prion-like hypothesis. Finally, the dominant-negative effect of p53 family members could be involved in other pathologies such as p63-related developmental syndromes. During this PhD, I studied the functional consequences of hotspot mutations of p53 and of the main isoforms of the p53 family on the transcriptional activity of p53, p63 and p73. Using the naïve eukaryotic model *S. cerevisiae* we have demonstrated that the dominant-negative effect of mutants and isoforms of the p53 family relies on the formation of hetero-tetramers between functional and non-functional members of the family but not on a prion-like mechanism. In addition, certain p53 mutants are able to interfere with p63 and p73 isoforms through a mechanism that is only partially based on tetramerization. Of note, we obtained preliminary results suggesting that mutants of p63, which are involved in EEC, ADULT and NSCL¹ developmental syndromes, behave like dominant-negative hotspot mutants of p53. The identification of the mechanisms of the dominant-negative effect occurring within p53 family could lead to new therapeutic targets both in cancer and in rare developmental syndromes.