

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie Santé

Spécialité : *Biologie cellulaire, Biologie du développement*

Par

Gaëlle ANGRAND

Découverte de nouveaux acteurs de la furtivité au système immunitaire du virus Epstein-Barr : vers de nouvelles cibles thérapeutiques pour dévoiler les cancers liés à cet oncovirus au système immunitaire

Implication du domaine RGG de la nucléoline et des arginine méthyltransférases de type I dans l'inhibition GAR dépendante de la traduction, le mécanisme à la base de la furtivité de l'oncovirus d'Epstein-Barr

Rapporteurs avant soutenance :

Laurence LAFANECHERE

Muriel LE ROMANCER

DR1 CNRS, IAB Site Santé, La Tronche

DR2 Inserm, Centre Léon Bérard, Lyon

Composition du Jury :

Examineurs : Laurent CORCOS

Laurence LAFANECHERE

Muriel LE ROMANCER

Luc PAILLARD

Rodrigo PRADO MARTINS

Marie-Paule TEULADE-FICHOU

Dir. de thèse : Marc BLONDEL

DR2 Inserm, UMR1078 IBRBS, Brest

DR1 CNRS, IAB Site Santé, La Tronche

DR2 Inserm, Centre Léon Bérard, Lyon

PR1, IGDR, Rennes

CRCN INRAE, Centre de recherche Val de Loire, Nouzilly

DR1 CNRS, CMIB, Institut Curie, Orsay

PR1, UMR1078, IBRBS, Brest

Titre : Découverte de nouveaux acteurs de la furtivité au système immunitaire du virus Epstein-Barr : vers de nouvelles cibles thérapeutiques pour dévoiler les cancers liés à cet oncovirus au système immunitaire

Mots clés : EBV, EBNA1, G-quadruplex, Nsr1, NCL, RGG motifs, PRMTs, levure *S. cerevisiae*

Résumé : Environ 95% de la population mondiale est infectée de façon latente par l'oncovirus d'Epstein-Barr (EBV) qui est associé notamment aux lymphomes de Burkitt et d'Hodgkin, à 10% des cancers gastriques et aux carcinomes nasopharyngés. Comme les autres gammaherpèsvirus, EBV est un virus latent qui échappe au système immunitaire. Néanmoins EBV a un talon d'Achille : sa protéine EBNA1. En effet, EBNA1 est exprimée dans toutes les cellules infectées par EBV car elle est essentielle à la maintenance du génome viral, mais également très antigénique, aussi des lymphocytes T CD8+ dirigés contre elle sont présents chez tous les individus infectés. Pour cette raison EBV a développé un mécanisme dans lequel le domaine GAR (*glycine-alanine repeat*) d'EBNA1 inhibe la traduction de son propre ARNm. Ainsi l'expression d'EBNA1 est limitée au niveau minimal pour assurer sa

fonction essentielle pour le virus, minimisant ainsi sa présentation antigénique, ce qui lui permet d'échapper au système immunitaire. Nous avons développé un modèle levure reproduisant l'effet de GAR qui a permis d'identifier des molécules et des gènes de l'hôte modulant l'effet inhibiteur de GAR sur la traduction. Parmi eux, la nucléoline (NCL) qui, en interagissant avec les G-quadruplex (G4) formés dans la séquence codant GAR de l'ARNm d'EBNA1, inhibe sa traduction. Nous avons mis en évidence le rôle crucial du domaine RGG C-terminal de la NCL et des arginines méthyltransférases (PRMTs) dans l'interaction de la NCL avec les G4 de l'ARNm d'EBNA1 et ainsi dans l'inhibition GAR-dépendante de la traduction. Ainsi les PRMTs représentent de nouvelles cibles thérapeutiques pour dévoiler les cancers liés à EBV au système immunitaire.

Title: Identification of new factors involved in immune evasion of the Epstein-Barr virus: towards new therapeutic targets to unveil cancers linked to this oncovirus to the immune system

Keywords: EBV, EBNA1, G-quadruplex, Nsr1, NCL, RGG motifs, PRMTs, budding yeast

Abstract: The Epstein-Barr virus (EBV) is the first oncogenic virus described in human and infects 95% of the human population worldwide. Altogether, EBV would be responsible for at least 1% of human cancers that include Burkitt and Hodgkin's lymphomas, 10% of gastric cancers and nasopharyngeal carcinomas. Like all the other gammaherpèsvirus, EBV evades the immune system, but it has an Achilles heel: its genome maintenance protein EBNA1. Indeed, EBNA1 is essential for viral genome replication and maintenance but also highly antigenic, thus inducing the production of CD8 + T cells raised against EBNA1 epitopes in all EBV-infected individuals. Hence, EBV seemingly evolved a system in which the glycine-alanine repeat (GAR) of EBNA1 limits the translation of its own mRNA to the minimal level to ensure its essential function thereby, at the same time, minimizing immune recognition.

Our team has developed an original yeast-based assay that recapitulates the main features of this GAR-based inhibition of translation, thus allowing the identification of molecules and genes interfering with the GAR-dependant inhibition of translation. This way, nucleolin (NCL) was identified as the first host factor involved in GAR-based inhibition of translation. This role involves its ability to interact with G-quadruplex (G4) formed in the GAR-encoding sequence of EBNA1 mRNA. We found that the NCL C-terminal RGG-domain and the type I arginine methyltransferases (PRMTs) are crucially involved in the interaction between NCL and G4 of EBNA1 mRNA, and thus in GAR-based inhibition of translation. Hence, these results define PRMTs as potential therapeutic targets to unveil EBV-related cancers to the immune system.