

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ECOLE DOCTORALE N° 637
Sciences de la Vie et de la Santé
Spécialité : Cancérologie

Par

Enora LE SCANF

Caractérisation des altérations de l'épissage des ARN pré-messagers dans les cancers digestifs à microsatellites instables

Thèse présentée et soutenue à Brest, le 18 décembre 2024

Unité de recherche : UMR1078 Génétique, Génomique Fonctionnelle et Biotechnologies

Rapporteurs avant soutenance :

Alexandra MARTINS Chargée de Recherche INSERM, UMR1245 Rouen
Didier AUBOEUF Directeur de Recherche INSERM, ENS de Lyon, Lyon

Composition du Jury :

Présidente : Emmanuelle GENIN	Directrice de Recherche INSERM, UMR1078, Brest
Examineurs : Alexandra MARTINS	Chargée de Recherche INSERM, UMR1245, Rouen
Didier AUBOEUF	Directeur de Recherche INSERM, ENS de Lyon, Lyon
Isabelle BEHM-ANSMANT	Chargée de Recherche CNRS, UMR7365, Nancy
Alain MOREL	Professeur des universités, Institut de cancérologie de l'Ouest, Angers
Marc BLONDEL	Professeur des universités UBO, UMR1078, Brest
Dir. de thèse : Laurent CORCOS	Directeur de Recherche INSERM, UMR1078, Brest

Invité

Cédric LE MARECHAL

Professeur des universités – Praticien hospitalier, UMR1078, Brest

Titre : Caractérisation des altérations de l'épissage des ARN pré-messagers dans les cancers digestifs à microsatellites instables

Mots clés : Cancers digestifs, microsatellite instable, épissage, polypyrimidine-tract

Résumé : Les cancers gastriques et colorectaux sont très fréquents et de mauvais pronostic. Le sous-type MSI (Microsatellites Instables), qui représente 15 à 20% de ces cancers, est déficient en système de réparation de l'ADN de type *mismatch repair*, entraînant une instabilité des microsatellites. Le polypyrimidine-tract (SP-MS) localisé en 3' des introns, peut être assimilé à un microsatellite et participe à l'épissage de l'exon en aval en interagissant avec la protéine U2AF2, qui forme un hétérodimère avec la protéine U2AF1 reconnaissant le dinucléotide AG, site accepteur d'épissage. Dans les cancers digestifs MSI, le raccourcissement du PyT induit une altération massive de l'épissage des ARN pré-messagers. Ces anomalies se caractérisent par un saut de

l'exon en aval dans l'ARNm, dépendant du gène considéré et de la taille de la délétion dans le SP-MS. Nous montrons qu'un SP-MS raccourci présente moins d'affinité pour la protéine U2AF2 in vitro et que la mutation U2AF1-S34F ou le knock-down d'U2AF1 peuvent mimer l'effet de l'altération du PyT. Enfin, les transcrits matures dépourvus de l'exon cible peuvent être soit stables, soit dégradés par le système NMD de surveillance des codons non-sens prématurés, et ne sont donc pas dotés d'une capacité spécifique à éviter la dégradation. Nous supposons que les protéines aberrantes, qui peuvent être traduites à partir de ces ARNm alternatifs, pourraient participer à l'oncogenèse par la production de néo-antigènes associés aux tumeurs.

Title : Characterization of pre-messenger RNA splicing alterations in digestive cancers with instability of microsatellites

Keywords : Digestive cancers, microsatellite instability, splicing, polypyrimidine-tract, U2AF2

Abstract : Gastric and colorectal cancers are among the most common and deadly cancers. The MSI (Microsatellite Instability) subtype, which accounts for 15-20% of these cancers is deficient in the DNA mismatch repair system, thus leading to microsatellite instability. The polypyrimidine tract (SP-MS) that seats at the 3' end of the intron, can be considered as a microsatellite-like structure that participates to the splicing of the downstream exon by interacting mainly with the U2AF2 protein and forms a heterodimer with the U2AF1 protein, which recognizes the AG dinucleotide 3' acceptor splice site. Shortening of the PyT, in MSI cancers, can lead to splicing changes. We have identified a massive alteration of pre-messenger RNA splicing in digestive MSI cancers, in

association with SP-MS shortening. These splicing defects are characterized by downstream exon skipping in mRNA, depending both on the gene considered and the size of the deletion in the SP-MS. We showed that a shortened SP-MS has less affinity for the U2AF2 protein in vitro and the mutation or knock-down of U2AF1 can mimic the effect of SP-MS alterations. Finally, mature transcripts devoid of the target exon can be either stable or degraded by the nonsense-mediated mRNA decay surveillance mechanism, and thus, are not endowed with a specific ability to avoid degradation. We surmise that the aberrant proteins that may be translated from these alternative mRNAs could participate in oncogenic mechanisms through the production of tumour-associated neo-antigens.