



HAL
open science

Étude du rôle des facteurs MYSM1 et ZNF699 dans la réparation de l'ADN

Benoît France

► **To cite this version:**

Benoît France. Étude du rôle des facteurs MYSM1 et ZNF699 dans la réparation de l'ADN. Biologie cellulaire. Université Sorbonne Paris Cité, 2018. Français. NNT : 2018USPCB072 . tel-02510917

HAL Id: tel-02510917

<https://theses.hal.science/tel-02510917>

Submitted on 18 Mar 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Paris Descartes

Ecole doctorale Bio Sorbonne Paris Cité (BioSPC – ED562)

Laboratoire Dynamique du Génome et Système Immunitaire (DGSI)

Institut IMAGINE

Etude du rôle des facteurs MYSM1 et ZNF699 dans la réparation de l'ADN.

Par [Benoît FRANCE]

Thèse de doctorat de [Biologie cellulaire et moléculaire]

Dirigée par [Patrick REVY]

Présentée et soutenue publiquement le [28 Septembre 2018]

Devant un jury composé de :

[Decottignies Anabelle, Directrice de Recherche	Rapporteur]
[Guérois Raphaël, Directeur de Recherche	Rapporteur]
[Bertrand Pascale, Directrice de Recherche	Examineur]
[Revy Patrick, Directeur de Recherche	Directeur de thèse]



A mes parents,

Remerciements :

Je tiens en premier lieu à remercier les membres de mon jury de thèse : Dr. Anabelle Decottignies, Dr Raphaël Guérois et Dr Pascale Bertrand, qui ont accepté d'examiner mes travaux. Je remercie également le Cancéropôle Ile-de-France et la Fondation pour la Recherche Médicale, qui ont financé ces quatre années de recherche.

Je remercie grandement les Drs. Patrick REVY et Jean-Pierre de VILLARTAY, co-directeurs du laboratoire DGSI, pour m'avoir accueilli au sein de l'Institut IMAGINE. Ce fut un réel plaisir de travailler durant ces quatre années et huit mois avec des chefs aussi complices. Et surtout, Patrick, je te remercie pour ton encadrement et la confiance que tu m'as accordée en me confiant ces projets. J'espère avoir pu y répondre ne serait-ce qu'un peu.

Laëtitia, tu as été ma coach dès mes premières heures au laboratoire. C'est peut-être pour cela que je n'ai cessé de t'embêter lorsque j'avais un trou de mémoire. Merci pour ta patience et ta bonne humeur. Bonne chance avec l'EPHE et vive Gryffondor.

Marie, merci beaucoup pour toutes nos discussions (surtout en cellulaire). Maintenant que tu as rejoint le rang des thésards, je te souhaite plein de bonnes choses pour la suite. Tu verras, la fin de thèse, ce n'est pas si terrible.

Vincent, notre addict du running. Nous n'avons jamais travaillé ensemble (tous les Benoît ne sont pas égaux) mais je te remercie d'avoir rendu ces années si drôles et agréables.

Satish, thank you for everything, and don't forget that now : « you're the boss ! »

Stefania, bella ragazza, un grand merci pour tout : ton écoute, ta bonne humeur, le quinoa ... et les lasagnes que j'attends toujours.

Loélia, je te souhaite le meilleur pour ta dernière année, et merci pour ton aide (surtout avec l'Amaxa).

Merci à Despina pour nos discussions à des heures tardives et les petits airs d'Opéra que l'on devinait depuis ton bureau.

Merci à Erika pour tes conseils et les RPE1. Qu'aurais-je fait sans elles ?

Un grand merci aussi à notre contingent espagnol : Anna, Marta et Elisa. Merci de m'avoir faits partager les saveurs et la bonne humeur de l'Ibérie. Hasta el fuego !

Aurélie, Mounia et Benoît, mes colocataires de bureau... merci de m'avoir supporté jusqu'au bout. Merci pour toutes ces heures passées ensemble à discuter un peu de science et beaucoup d'autres choses. Je ne pense pas que j'aurais pris autant de plaisir à venir travailler chaque jour, si vous n'aviez pas été là. Merci pour tout.

La vie dans un laboratoire de recherche étant rythmée par les arrivées et les départs, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont partagé quelques-unes de ces années avec moi.

Merci à Laurent d'avoir été mon premier voisin de bureau et d'avoir disséqué l'actualité archéologique avec moi. Merci à Maname de m'avoir nourri des saveurs de l'Algérie et d'avoir supporté mon humour potache. Aussi, un grand merci à Emilie, Paola, Sophie et Shu, qui m'ont accueilli à mon arrivée et m'ont toujours offert de bons conseils. Enfin, merci à Coralie pour tes chansons et ton humour.

Concernant mes travaux, je remercie la plateforme d'imagerie de l'Institut IMAGINE pour m'avoir formé à la microscopie confocale, ainsi qu'Olivier Pellé pour son aide avec la cytométrie en flux et le tri cellulaire.

Pour terminer, je remercie Virginie, ma moitié. Ces années de thèse n'ont pas toujours été faciles, mais tu as toujours été à mes côtés malgré la distance.

Et je remercie mes parents, Marie et Alexandre. Merci de m'avoir poussé dans mes études. Merci de votre soutien indéfectible, et merci d'avoir demandé chaque semaine si mes cellules poussaient bien. Ce travail est pour vous.

TABLE DES MATIERES

RESUME DE LA THESE.....	12
PREMIÈRE PARTIE: [INTRODUCTION]	14
CHAPITRE 1 : [LES VOIES DE REPARATION DE L'ADN]	16
CHAPITRE 2 : [DEFAUTS DES VOIES DE REPARATION]	42
CHAPITRE 3 : [IMPORTANCE DE LA CHROMATINE DANS LA STABILITE DU GENOME]	54
CHAPITRE 4 : [MYSM1, UNE HISTONE DEUBIQUITINASE]	72
CHAPITRE 5 : [REGULATION DES TELOMERES ET DEFAUTS ASSOCIES].....	92
DEUXIÈME PARTIE: [RÉSULTATS].....	112
PARTIE II.1 : [IMPLICATION DE MYSM1 DANS LA DDR]	114
PARTIE II.2 : [CARACTERISATION PHENOTYPIQUE D'UN PATIENT PRESENTANT DES SIGNES DE VIEILLISSEMENT ACCELERE ASSOCIES A UNE IMMUNODEFICIENCE ET UNE HYPOPLASIE DU CERVELET : IMPLICATION DU FACTEUR ZNF699]	150
TROISIÈME PARTIE: [DISCUSSION].....	175
PARTIE III.1 : [ETUDE DU ROLE DE MYSM1 DANS LA REPARATION DE L'ADN]	177
PARTIE III.2 : [CARACTERISATION PHENOTYPIQUE D'UN SYNDROME DE VIEILLISSEMENT ACCELERE ET IMPLICATION DU FACTEUR ZNF699]	185
QUATRIÈME PARTIE: [CONCLUSION & PERSPECTIVES]	189
ANNEXE 01	193
ANNEXE 02	195
MATERIEL & METHODES	197
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	207

LISTE DES SCHEMAS, FIGURES & TABLEAU :

Schéma 01 : Illustrations de différents dommages à l'ADN et des voies de réparation correspondantes

Schéma 02 : Illustration de la voie BER

Schéma 03 : Illustration de la voie NER

Schéma 04 : Illustration de la voie MMR

Schéma 05 : Fonctions des différents composants de la voie Fanconi

Schéma 06 : Illustration de la voie NHEJ classique

Schéma 07 : Illustration des premières étapes de la voie RH

Schéma 08 : Illustration des possibilités de résolution de la voie RH

Schéma 09 : Illustration de la structure chromatinienne

Schéma 10 : Illustration de la différence entre euchromatine et hétérochromatine

Schéma 11 : Illustration du rôle de RNF8/RNF168 au niveau de l'histone H2A au cours de la DDR.

Schéma 12 : Illustration du rôle de BRCA1 au niveau de l'histone H2A au cours de la DDR.

Schéma 13 : Illustration du rôle de PRC1 au niveau de l'histone H2A au cours de la DDR.

Schéma 14 : Illustration de la structure de la protéine MYSM1.

Schéma 15 : Illustration du mode d'action de MYSM1 dans la régulation de la transcription.

Schéma 16 : Illustration d'une fonction de MYSM1 dans la déubiquitination de facteurs non-chromatiniens.

Schéma 17 : Structure de l'ADN télomérique et d'un quadruplexe G

Schéma 18 : Illustration du mécanisme d'élongation des télomères via l'activité du complexe télomérase

Schéma 19 : Représentation schématique du complexe shelterin au niveau d'une extrémité télomérique

Schéma 20 : Illustration des fonctions potentielles de MYSM1 au cours de la DDR.

Tableau 01 : Phénotype clinique des patients MYSM1 décrits dans la littérature

Figure 01 : Effet de la mutation H656R portée par le patient M sur l'activité déubiquitineuse de MYSM1

Figure 02 : Recherche de défauts de la DDR au sein des cellules du patient M

Figure 03 : Observation de défauts de prise en charge des ICL au sein des cellules du patient M

Figure 04 : Evaluation de l'intégrité des checkpoints cellulaires et de la voie Fanconi chez le patient M

Figure 05 : Analyse du transcriptome au sein des fibroblastes du patient M

Figure 06 : Expériences de microirradiation laser réalisées au sein de cellules HEK293T

Figure 07 : Evaluation de la DDR par marquage de 53BP1 au sein de fibroblastes primaires du patient M et d'un contrôle sein

Figure 08 : Evaluation de la stabilité d'H656R et de la sensibilité à la phléomycine et MMC au sein des fibroSVtel+ du patient M

Figure 09 : Lignée U2OS MyKO

Figure 10 : Lignées de fibroSVtel+ MyKO

Figure 11 : Lignées RPE1 MyKO

Figure 12 : Expériences de microirradiation laser réalisées au sein de lignées RPE1 WT et MyKO

Figure 13 : Validation du système d'expression inductible via le vecteur lentiviral pCW57

Figure 14 : Tests de complémentation de l'hypersensibilité à la phléomycine des lignées RPE1 MyKO

Figure 15 : Analyse de la DDR au sein de MEF-SV40 MyKO

Figure 16 : Début de l'étude phénotypique du patient Z

Figure 17 : Marquage TIF (telomere induced foci) dans les fibroblastes primaires du patient Z et d'un contrôle sain

Figure 18 : Recherche d'aberrations télomériques sur un étalement de chromosomes en métaphases

Figure 19 : Aberrations nucléaires et niveau d'hétérochromatine dans les cellules du patient Z

Figure 20 : Evaluation de la ploïdie au sein des fibroblastes du patient Z

Figure 21 : Vidéo microscopie appliquée à la caractérisation de la division cellulaire des fibroSV du patient Z et d'un contrôle sain

Figure 22 : Test de sensibilité des fibroSV du patient Z à la phléomycine et MMC

Figure 23 : Caractérisation de la ploïdie et du cycle cellulaire dans les B-EBV du patient Z et d'un contrôle sain

Figure 24 : Recherche d'un facteur génétique et sélection de ZNF699

Figure 25 : Effet de la mutation del.1421A sur la protéine ZNF699

Figure 26 : Observation de ZNF699 et $\Delta 699$ par microscopie confocale

Figure 27 : Recrutement des facteurs pCAF, BRG1 (SMARCA4) et BRM (SMARCA2) au niveau de CDB générées par microirradiation laser

Figure 28 : Marquage de foyers pH2A.X dans les lignées RPE1 MyKO

Figure 29 : Résultats obtenus après analyse transcriptomique des fibroblastes primaires du patient M en comparaison d'un contrôle sain, en l'absence ou présence de MMC

Résumé de la thèse

Au cours des 20 dernières années, d'importantes connaissances ont été acquises concernant les implications de la réponse aux dommages de l'ADN (DDR) dans le développement, la maturation et la fonction du système immunitaire. Le laboratoire DGSi a contribué à cette aventure en montrant que, en effet, des défauts dans la DDR peuvent entraîner des déficits immunitaires et, dans certains cas, une prédisposition au cancer.

La première partie de la thèse est basée sur l'analyse d'un patient présentant un déficit immunitaire et des anomalies du développement. Une mutation faux-sens homozygote affectant le site catalytique de la déubiquitinase d'histone MYSM1 a pu être identifiée chez ce dernier. MYSM1 est une métallo-protéase, ciblant la forme monoubiquitinée de l'histone H2A en position K119 (H2AK119ub), un marqueur de la chromatine associé à la répression transcriptionnelle. Il a été décrit, à partir de modèles murins, que MYSM1 participe à la dérégulation transcriptionnelle de gènes impliqués dans l'homéostasie des cellules souches hématopoïétiques, l'hématopoïèse et la différenciation des lymphocytes. Le patient déficient en MYSM1 présente une absence totale de lymphocytes B, une lymphopénie T, une hématopoïèse défectueuse et des anomalies du développement. Comme chez les souris KO MYSM1, la plupart de ces caractéristiques pourraient être dues à la dérégulation transcriptionnelle de facteurs impliqués dans le développement immuno-hématologique. Cependant, les fibroblastes du patient présentent une hypersensibilité à des agents génotoxiques. Ces résultats indiquent que la réponse aux dommages de l'ADN est compromise dans les cellules du patient, un phénotype non décrit dans les études de souris KO, et suggèrent un rôle de MYSM1 dans la DDR.

Une deuxième partie de la thèse porte sur le facteur ZNF699. Une insertion homozygote d'un nucléotide, conduisant à un décalage du cadre de lecture, a été identifiée dans le gène codant ZNF699, un facteur à doigts de zinc, chez un patient atteint d'insuffisance médullaire associée à un vieillissement accéléré et des télomères courts. Les cellules de ce patient présentent une hypersensibilité à des agents génotoxiques, suggérant une fonction de ZNF699 dans la réparation de l'ADN.

L'objectif de cette thèse est de comprendre l'implication des facteurs MYSM1 et ZNF699 dans la pathologie respective de chaque patient, ainsi que l'implication de ces facteurs dans les mécanismes de réponses aux dommages de l'ADN (DDR).

Première partie: [Introduction]

Chapitre 1 : [Les voies de réparation de l'ADN]

L'ADN est une molécule réactive, exposée à des modifications qui peuvent s'avérer délétères pour la cellule. Préserver son génome est donc une fonction essentielle pour tout organisme vivant. Afin de faire face à ces menaces, les cellules ont développé des mécanismes de réponse aux dommages de l'ADN (DDR) via la mise en place de voies de réparation. Ces voies permettent une réparation adaptée en fonction de la lésion subite par le génome, et feront l'objet de ce Chapitre 1. Une déficience de ces dernières, entraînant leur implication dans plusieurs syndromes ou pathologies, sera le sujet du Chapitre 2 de cette introduction.

Le génome de tout organisme est en permanence sous l'influence d'acteurs endogènes, provenant du métabolisme et majoritairement de l'activité mitochondriale ; ou exogènes, provenant d'un stress physique, chimique ou biologique incluant les ultra-violets (UV), les radiations ionisantes (RI), les métaux lourds, les traitements médicaux (i.e. : chimiothérapies) ou encore la réponse inflammatoire. En ne comptant que les effets du métabolisme, les erreurs de réplication ou les modifications spontanées, il est estimé à 10^5 le nombre moyen d'atteintes du génome dans une cellule de mammifère chaque jour (Hoeijmakers 2009).

Parmi ces modifications du génome, on retrouvera des changements de base, sites abasiques, cassure simple ou double-brin d'ADN, ponts inter- ou intra-brins ou agrégations protéine(s)-ADN. Environ 10^4 lésions sont des bases oxydées ou des cassures simple brins de l'ADN (Iyama et Wilson 2013). La persistance de ces lésions est source de mutagenèse, sous la forme d'une substitution de base, d'insertions ou de délétions, ou de réarrangements chromosomiques plus importants. Cette dynamique du génome peut alors devenir une étape essentielle pour le développement de cancer et contribue à l'apparition de maladies liées à l'âge ou vieillissement (Hoeijmakers 2009). La « surveillance » et la « maintenance » du génome sont donc des processus essentiels pour lutter contre ces dysfonctionnements, tout au long de la vie d'un individu.

1) Les dommages à l'ADN

Les atteintes du génome peuvent être classées en deux catégories, suivant si elles sont d'origine endogènes (c'est-à-dire issues du métabolisme cellulaire), ou exogènes (c'est-à-dire provenant de sources extérieures à l'organisme).

La majorité des dommages endogènes sont issues de l'interaction entre l'ADN et l'eau ou des réactifs oxygénés (ROS) issus de la respiration cellulaire (Reuter et al. 2010; Perrone et al. 2016). Les processus comme la recombinaison V(D)J, la recombinaison de classe des immunoglobulines ou la recombinaison méiotique sont des processus physiologiques utilisant les cassures double-brins (CDB) de l'ADN et peuvent donc être considérés comme une source de dommages endogène. Cependant, ces processus étant particuliers, une partie spécifique de ce chapitre leur sera consacrée. Les dommages exogènes, quant à eux, peuvent être induits par des agents chimiques, physiques ou environnementaux et incluent les ultra-violets (UV), les radiations ionisantes (RI), les agents alkylants ou pontants de l'ADN.

a) Les sources de dommages endogènes

i) Réplication et transcription :

Les polymérase d'ADN peuvent être sources d'erreurs au sein de l'ADN nouvellement répliqué (Loeb et Monnat 2008). Ces erreurs peuvent apparaître sous forme de substitutions de base et d'insertions ou délétions. Un glissement de la fourche de réplication dans des régions riches en séquences répétées peut également entraîner une insertion ou délétion de fragments nucléotidiques, menant à un décalage du cadre de lecture. Enfin, l'insertion d'uracile ou d'une base mésappariée peut être provoquée par un déséquilibre au niveau de la concentration cellulaire en dNTPs ou rNTPs (Kumar et al. 2011; Buckland et al. 2014; Potenski et Klein 2014). Ces mésappariements peuvent devenir une source de mutagenèse pour les générations suivantes si elles ne sont pas détectées par les systèmes de vérification des polymérase ou la voie MMR.

Les topoisomérase sont des enzymes permettant de relâcher la tension de la double hélice d'ADN afin de faciliter la transcription ou la réplication. Ces enzymes fonctionnent en générant des coupures simple ou double-brin de l'ADN et peuvent se retrouver sources de lésions. Certains composés anticancéreux (comme la camptothécine) immobilisent les topoisomérase,

transformant une simple coupure en lésion (Han et al. 2008). Le blocage des topoisomérases peut également être provoqué par des liaisons intra-brin (issues d'une irradiation UV ou de dérivés benzènes) ou des structures ADN aberrantes (comme un mésappariement ou des sites abasiques) (Pourquier et Pommier 2001).

ii) Les réactifs oxygénés (ROS) :

Les réactifs oxygénés (ROS) peuvent être une source importante d'altération du génome. Ils sont principalement issus de la respiration cellulaire (Henle et Linn 1997), et en condition normale, sont utilisés dans différents processus physiologiques allant de la signalisation cellulaire à la défense contre des pathogènes au sein du système immunitaire (Segal 2005). Ces produits du métabolisme sont régulés par différentes enzymes telle que les superoxydes dismutases, catalases ou les peroxyrédoxines (Storr, Woolston, et Martin, s. d.; Ray, Huang, et Tsuji 2012). Cependant, lorsque ces derniers sont présents en excès, ils peuvent être sources de nombreuses modifications de bases nucléotidiques ou réagir avec les sucres de l'ADN causant des cassures simple-brins (CSB) (Cadet et Wagner 2014). Parmi ces modifications dues aux ROS, les 8-oxo-dGuanines (8-o-dG) sont les plus abondantes (Iyama et Wilson 2013). Cette modification de base possède une capacité mutagène importante. Elle peut s'associer avec l'adénine ou la cytidine lors de la réplication et entraîner une substitution G:C vers T:A dans la séquence d'ADN répliqué. L'apparition de transcrits ARN muté est également à considérer. Une autre modification de base à fort potentiel mutagène est la déamination. Elle permet de produire de l'uracile, de l'inosine ou de la xanthosine à partir de la cytidine, l'adénine ou la guanine respectivement. Cette modification peut alors entraîner des substitutions C:G vers T:A et inversement. Il a été montré qu'en plus de pouvoir causer l'apparition de mutations au sein de la séquence d'ADN d'une cellule, ces modifications peuvent ralentir ou bloquer la progression de polymérases d'ADN ou d'ARN et activer une réponse de mort cellulaire (Ohno 2006; Greenberg 2004; Gedik et Collins 2005).

Ces bases modifiées sont prises en charge par la voie « base excision repair » (BER), et les cassures dues à une hydrolyse des sucres sont réparées via la voie de réparation des CSB ou des CDB en fonction de la nature de ces dernières (Demple et Harrison, s. d.). Enfin, la surabondance de ROS est observable dans différentes pathologies telles que le cancer, le diabète, la maladie d'Alzheimer ou de Parkinson et certains cas d'infarctus (Giacco et Brownlee 2010; Liou et Storz 2010; Vera, Eunsung, et Maral 2013; Hafstad, Nabeebaccus, et Shah 2013; Hroudová, Singh, et Fišar 2014).

b) Les sources de dommages exogènes

i) Les radiations ionisantes :

Les radiations ionisantes (RI) sont composées entre autres des rayons alpha, beta, gamma et rayons X. Une exposition à ces RI peut endommager l'ADN de manière indirecte en hydrolysant les molécules d'eau entourant ce dernier (générant des radicaux hydroxyles (OH) extrêmement réactifs), ou de manière directe (Morgan et Sowa 2015). Il est important de préciser que 65% des dommages induits par RI proviendraient de la génération de ROS (Vignard, Mirey, et Salles 2013). L'irradiation produit ainsi un éventail de lésions d'ADN important allant d'une oxydation de bases à une CDB, les 8-oxo-G restant la lésion prépondérante.

ii) Les radiations UV :

Une des causes majeures de cancers de la peau est la surexposition à la lumière solaire et plus précisément aux UV (Moan et al. 2015). Les UV peuvent générer différentes lésions en fonction de leur longueur d'ondes. Ces derniers sont ainsi répertoriés en trois catégories : les UV-C (allant de 190 à 290nm), les UV-B (allant de 290 à 320nm) et les UV-A (allant de 320 à environ 400nm). L'ADN possède une capacité d'absorbance maximale aux environ de 260nm, faisant des UV-C (filtrés en partie par la couche d'ozone) les UV les plus toxiques pour l'ADN (Davies 1995). Une des modifications causées par ces derniers est la formation de dimères de pyrimidine (CPD) (Mitchell et Nairn 1989; Davies 1995). Les CPD génèrent un stress physique en déformant la double hélice d'ADN et peuvent alors être source de mutagénèse, en bloquant la réplication ou la transcription.

iii) Les agents alkylants :

Les sources d'agents alkylants sont diverses : nutrition, alcool, tabagisme, fumée et composés industriels ou encore produits de chimiothérapie (CRUTZEN 1990; Puyo, Montaudon, et Pourquoier 2014). Ces agents sont capables de modifier les bases de l'ADN de nombreuses manières et aboutissent à la formation de lésions mutagènes ou carcinogènes. Ces lésions apparaissent sous la forme de ponts intra- et inter-brins d'ADN (ICL) ou de ponts protéines-ADN, bloquant le métabolisme nucléaire (Puyo, Montaudon, et Pourquoier 2014). Parmi ces agents alkylants peuvent être cités la mitomycine C (MMC), le cisplatine, les cyclophosphamides ou le méthane sulfonate de

méthyl (MMS) utilisés en laboratoire et dans le traitement de certains cancers. Le soufre ou le gaz moutarde sont aussi des agents alkylants (Chatterjee et Walker 2017).

iv) Autres :

Enfin d'autres composés comme les amines aromatiques (Skipper et al. 2010), les hydrocarbures (Hongtao Yu 2013), certaines toxines issues de micro-organismes (Grasso et Frisan 2015; Bennett et Klich 2003) et différents stress environnementaux (températures extrêmes) (Neutelings et al. 2013; Kantidze et al., s. d.) peuvent endommager le génome et déclencher l'activation de la DDR.



Schéma 1 : Illustrations de différents dommages à l'ADN et des voies de réparation correspondantes.

2) Les voies de réparation des modifications du génome

Après lésion de l'ADN, des senseurs protéiques, spécifiques de la lésion détectée, initie une réponse aux dommages. Cette réponse fait alors appel à une cascade d'effecteurs en trois étapes : la détection, le signalement et la réparation de la lésion (Harper et Elledge 2007). Il est important de préciser que le recrutement de ces facteurs de la réparation est observable, via microscopie, sous la forme de foyers nucléaires ou foci (S. E. Polo et Jackson 2011; Lukas et al. 2003). Egalement, la chorégraphie de ces facteurs est régulée par une dynamique chromatinienne dont l'importance sera expliquée dans le chapitre 3 (Misteli et Soutoglou 2009; Altmeyer et Lukas 2013).

a) La voie BER : réparation par excision de base

La voie BER permet de corriger une oxydation (ex : 8-oxo-dG), déamination, alkylation ou absence de base nucléotidique. Cette voie de réparation est principalement active en phase G1 du cycle cellulaire (Dianov et Hübscher 2013) et la reconnaissance de la lésion se fait par une glycosylase d'ADN. Cette dernière hydrolyse (rompt) la liaison entre la base endommagée et le sucre ribose du squelette ADN, laissant alors un vide dans la séquence appelé site abasique. Il existe une dizaine de glycosylases différentes permettant de reconnaître un éventail important de bases modifiées (Krokan et Bjoras 2013). Par exemple, la glycosylase APE1 qui est une endonucléase, rompt le brin d'ADN portant un site abasique, créant une cassure simple-brin de l'ADN. Si une modification de l'extrémité est requise, des enzymes telles PNKP ou APTX, peuvent modifier cette dernière. Une polymérase ADN (POL beta) retire alors le phosphoribose laissé par APE1 et comble le vide avec une nouvelle base. Une ligase d'ADN (LIG1 par exemple) peut alors refermer l'ensemble (Chatterjee et Walker 2017).

Enfin, il est important de préciser qu'il existe deux versions de la voie BER : la voie BER « courte » et la voie BER « longue » (Dianov et Hübscher 2013) dont les différences sont présentées dans le schéma ci-dessous.

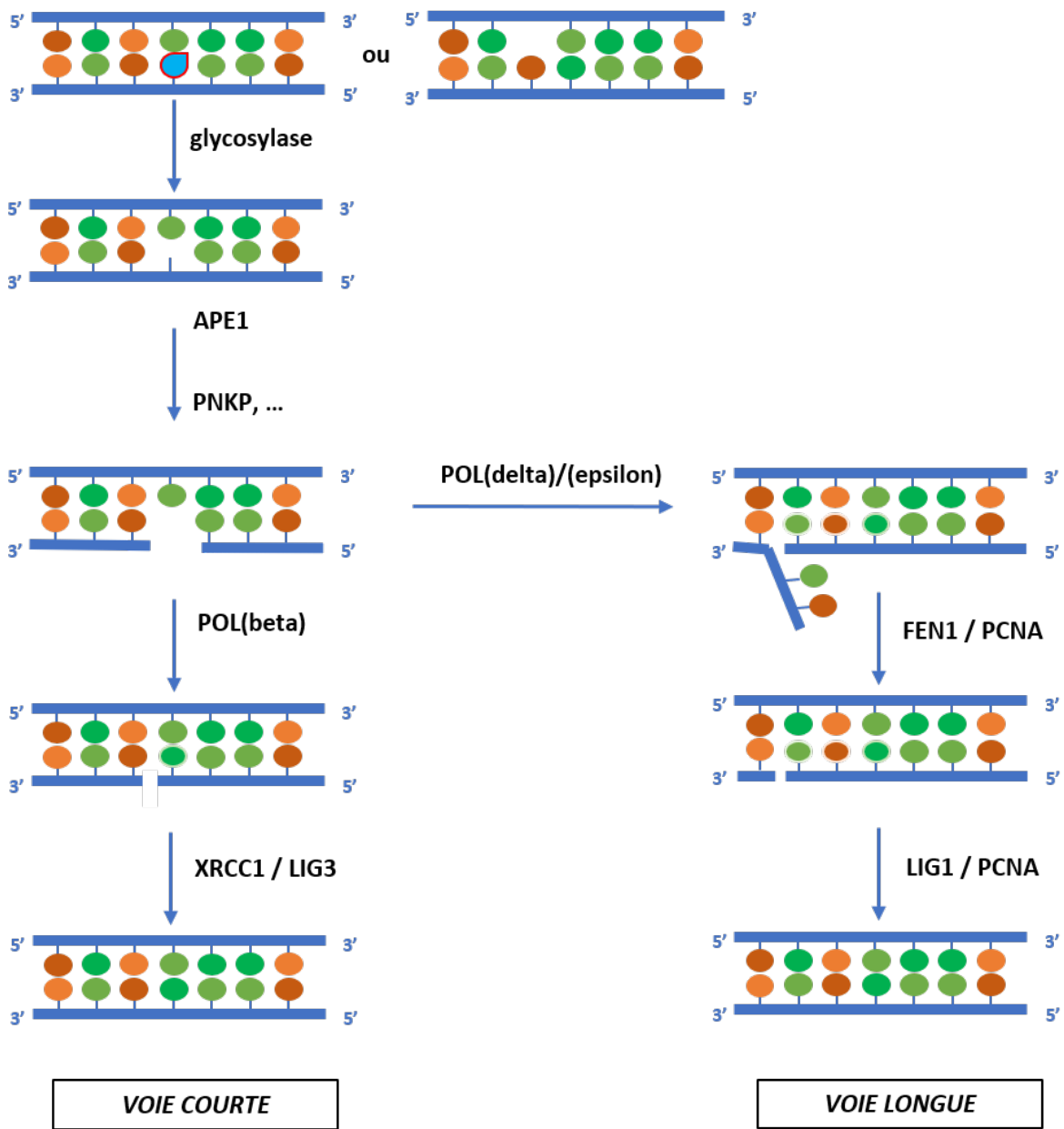


Schéma 2 : Illustration de la voie BER

b) La voie NER : réparation par excision de nucléotide

La voie NER permet de réparer des lésions plus volumineuses, comme les CPD issues d'une irradiation UV, ou des lésions dues à certains composés utilisés en chimiothérapie. Ces modifications peuvent entraîner un ralentissement des fourches de réplication ou de la transcription, ou être ignorées et mener à l'insertion d'erreurs (mutations) dans le brin néo-transcrit ou l'ARNm synthétisé. La voie NER peut se résumer en 4 étapes : 1) la détection de la lésion, 2) une incision de part et d'autre de cette dernière et le retrait de l'oligonucléotide altéré, 3) l'intégration d'un oligonucléotide afin de restaurer un double brin d'ADN sans modification et 4) une ligation afin de refermer le brin nouvellement réparé.

Cette voie de réparation fait appel à de nombreux acteurs, agissant de manière coordonnée. Si la lésion se trouve sur un double brin d'ADN génomique ou sur une partie simple brin en cours de transcription, il faudra discerner deux voies de NER, respectivement appelé GG-NER pour le génome de façon globale, ou TC-NER pour une réparation sur un brin en cours de transcription. Ces deux voies ne se distinguent l'une de l'autre que par la première étape de détection de la lésion.

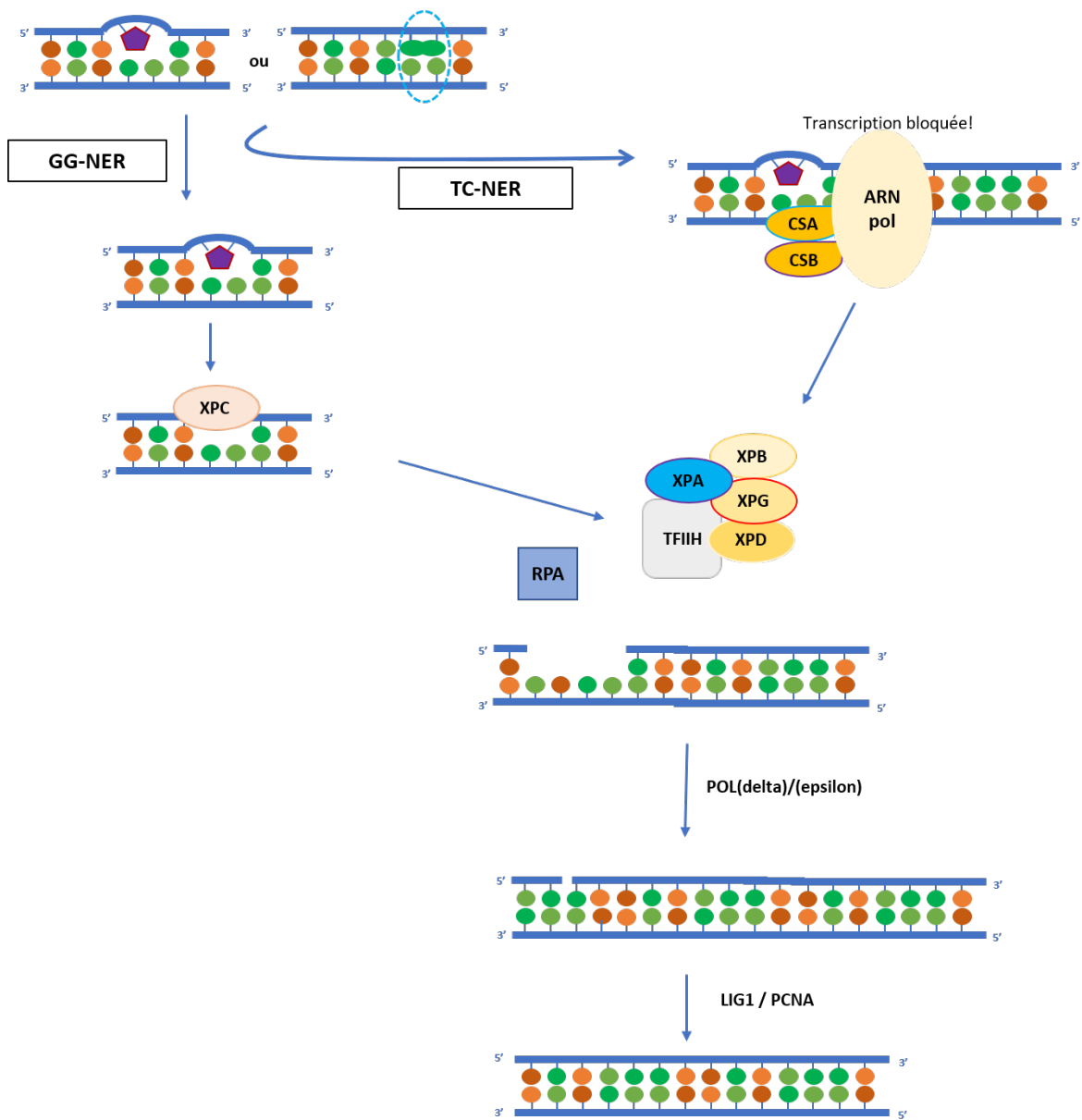


Schéma 3 : Illustration de la voie NER

c) La voie MMR : réparation de mésappariement

Cette voie est post-répliquative et permet d'augmenter grandement la fidélité de réplication de l'ADN (T. A. Kunkel 2009; Arana et Kunkel 2010). La cible principale de cette voie est le mésappariement de base et les insertions ou délétions apparus lors de la réplication (Jiricny 2006).

Chez l'Homme, l'hétérodimère MSH2/MSH6 est utilisé pour reconnaître les mésappariements de base ou les insertions/délétions allant jusqu'à deux nucléotides. L'hétérodimère MSH2/MSH3 est quant à lui utilisé pour des insertions/délétions plus importantes (Thomas A. Kunkel et Erie 2005; Sachadyn 2010). L'endonucléase EXO1 intervient ensuite afin d'inciser le brin endommagé. L'extrémité 5' libérée par l'incision est encapsulée par une accumulation de facteurs RPA (Y. Zhang et al. 2005; S. Guo et al. 2006; T. A. Kunkel 2009). Une polymérase telle la polymérase (delta), RFC, HMGB1 (High mobility group box 1) ou LIG1 réalise les dernières étapes de synthèse et de ligation (Yuan et al. 2004; S. Guo et al. 2006). A noter que le facteur PCNA joue un rôle important dans cette voie de réparation, lors de l'étape d'initiation et de synthèse, en permettant le recrutement des hétérodimère MSH au site de lésion (Jiricny 2006).

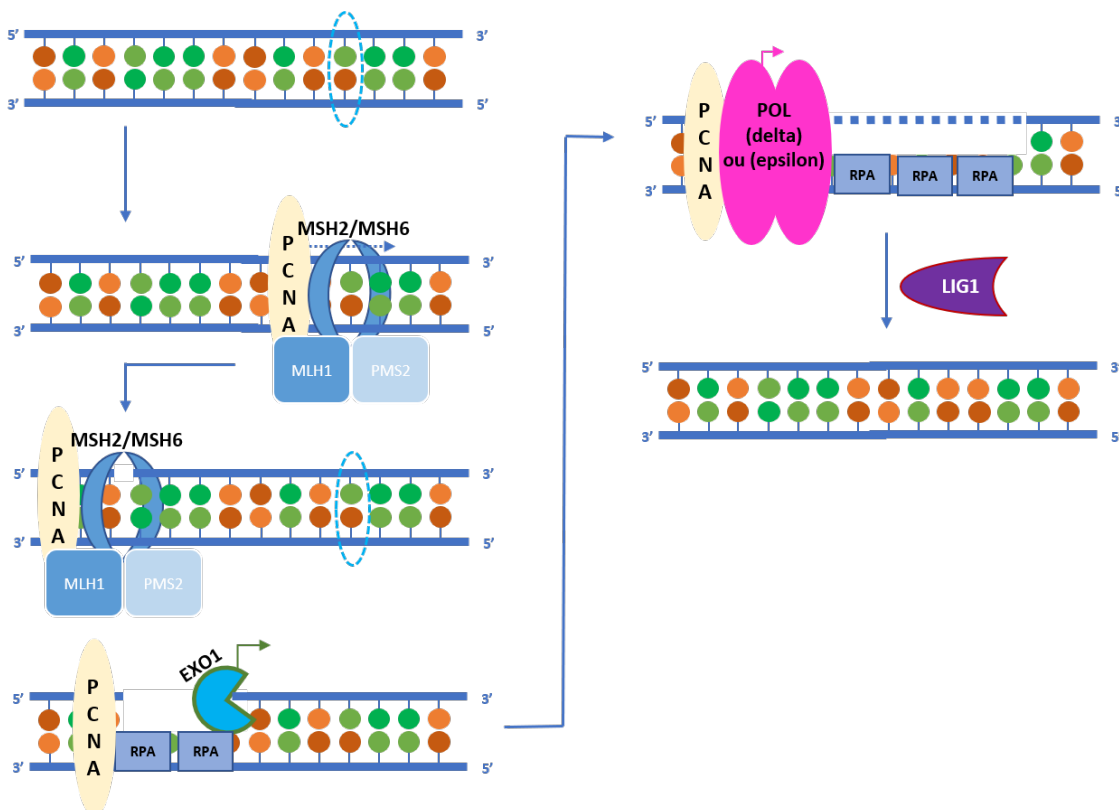


Schéma 4 : Illustration de la voie MMR

d) La voie Fanconi ou réparation des ponts inter-brins (ICL)

Les lésions provoquées par des agents alkylants (Clauson, Scharer, et Niedernhofer 2013) sont reconnues et prises en charge par la voie Fanconi. Celle-ci est associée à l'anémie de Fanconi (FA), une maladie rare qui sera présentée dans le chapitre 2. Les effecteurs de cette voie sont divisés en 21 sous-groupes de complémentation en rapport avec cette pathologie, allant de FANCA à FANCV (Walden et Deans 2014).

A l'apparition d'un ICL, FANCM est recruté à la lésion avec FAAP24 (FA associated protein 24kDa) et MFH (un complexe d'interaction avec les histones). L'ensemble favorise la formation d'une jonction de Holliday via la fourche de réplication et la création d'une extension 3' simple-brin (Walden et Deans 2014). Cette extension est liée par RPA entraînant l'activation d'ATR et la phosphorylation de CHK1. Phospho-CHK1 phosphoryle à son tour FANCE, FANCD2, FANCI et le complexe MRN (Agata Smogorzewska et al. 2008; Walden et Deans 2014). Un complexe formé de FANCA/B/C/E/F/G/L/T, situé au niveau de la lésion, active alors l'hétérodimère phosphoFANCI-FANCD2 via une mono-ubiquitination médiée par FANCL (Agata Smogorzewska et al. 2008). Cette mono-ubiquitination de FANCD2 est alors considérée comme une étape clé de la voie Fanconi (Tomida et al. 2013). L'étape suivante est l'excision de la lésion par des endonucléases spécifiques telles que XPF-ERCC1, SLX4/1, SNM1A/B ou FAN1 (Clauson, Scharer, et Niedernhofer 2013).

Par la suite, suivant si la cellule est dans un état réplcatif ou non, deux options sont possibles pour terminer la réparation. Dans le cas d'une cellule en cours de réplication (phase S), la présence d'ICL stoppe cette dernière (Knipscheer et al. 2009). XPF-ERCC1 et SNM1A incise alors l'ADN sur un coté de la lésion, générant une interruption de la séquence (A. T. Wang et al. 2011). Le brin codant devient alors le support de polymérase translésionnelles (PTLS) telles POL iota, POL kappa, POL nu ou REV1, qui initient une néosynthèse en amont de la lésion, la dépassent, et poursuivent jusqu'au premier fragment d'Okazaki en aval de la lésion (Yamanaka et al. 2010; Ho et al. 2011; A. R. Klug et al. 2012). L'extension 3' du brin non-codant restée en retrait, se lie alors au brin codant néosynthétisé d'une manière RAD51-dépendante (Long et al. 2011). La résolution de cette étape, intermédiaire de la voie de recombinaison homologue (RH) abordée plus loin, dépend du complexe FANCD2-FANCI. Enfin, la voie NER permet le retrait éventuel de l'extension 5' portant toujours l'ICL avant re-ligation.

Dans une cellule non-répliquative, la réparation d'ICL dépendra de la voie NER et de PTLs telles REV1 ou POL(eta) (Clauson, Scharer, et Niedernhofer 2013).

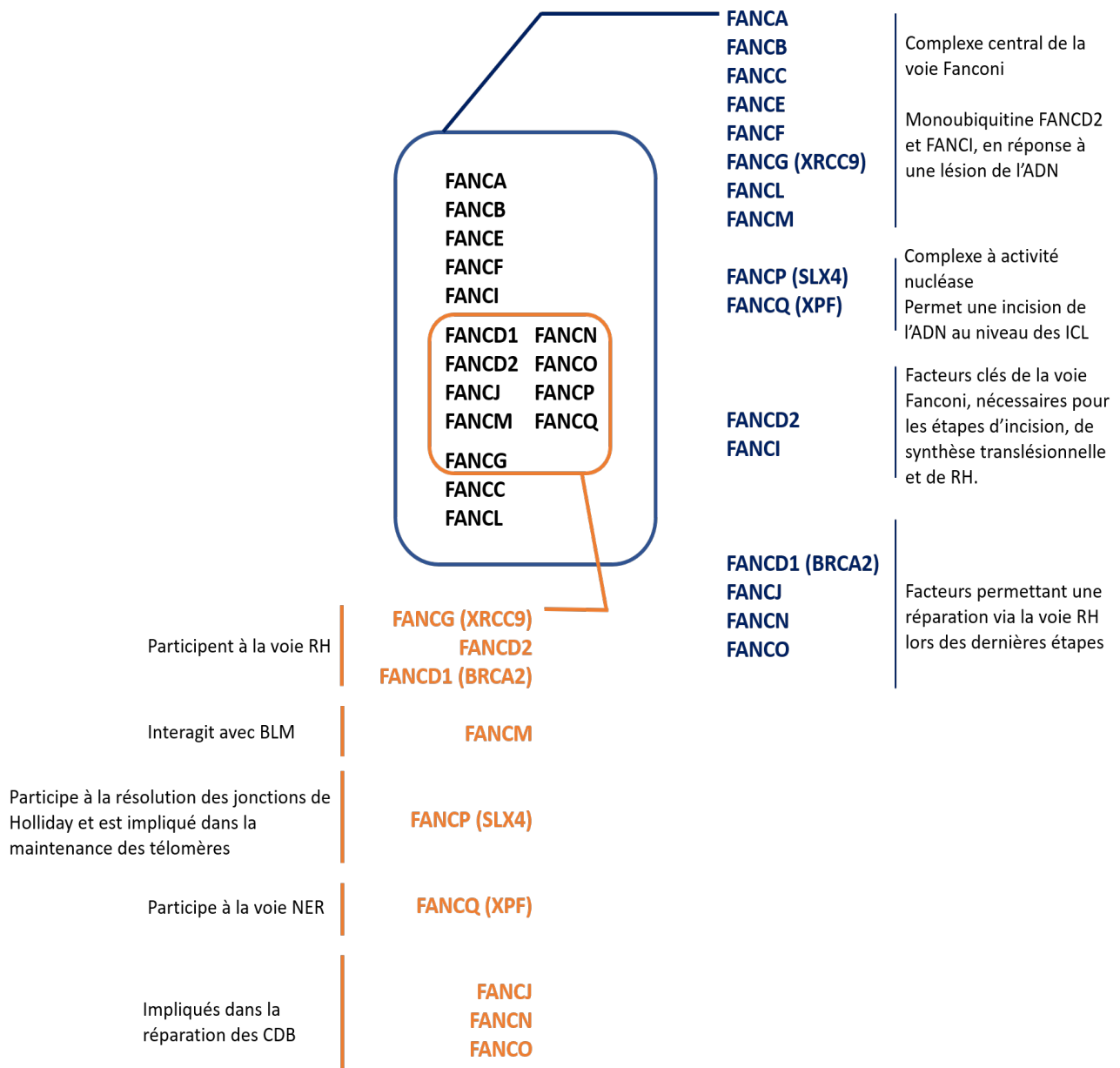


Schéma 5 : Fonctions des différents composants de la voie Fanconi
Adapté à partir de (Garaycochea et Patel 2014)

3) Les voies de réparation des cassures de l'ADN

a) Les cassures simple-brin (CSB)

Les cassures simple-brin de l'ADN (CSB) sont les atteintes de l'ADN les plus fréquentes et sont estimées à environ 1×10^4 par cellule et par jour. Les CSB peuvent se former de nombreuses façons :

- par réaction entre un sucre désoxyribose et un ROS issu du métabolisme cellulaire.
- en tant que produit intermédiaire d'une étape de réparation défectueuse.
- ou en tant qu'intermédiaire issu de l'activité catalytique d'une topoisomérase telle que TOP1. Celle-ci forme un complexe covalent avec l'ADN, lors de la réplication ou de la transcription, afin de résoudre des structures super enroulées de ce dernier (J. C. Wang 2002).

Une CSB peut mener à l'effondrement d'une fourche de réplication, bloquer la transcription ou générer une CDB et déclencher des signaux de mort cellulaire (Heeres et Hergenrother 2007). La détection d'une CSB est réalisée par les protéines PARP1 ou TOP1 (Eustermann et al. 2015). En considérant toutes les possibilités de formation de ces dernières, il est normal d'envisager la multitude de forme que prendront les extrémités de ces cassures : 3'-phosphate, phosphoglycolate (PG), liaison ADN/protéine (ou peptide), 5'-hydroxile (5'-OH) ou encore adénosine monophosphate. Afin de faire face à cette diversité, les cellules ont développé un arsenal d'enzymes spécialisées (APE1, PNKP, tyrosyl-DNA phosphodiesterase (TDP1), aprataxin (APTX), et autres ligases) capables de générer les extrémités 3' et 5' adaptées à la bonne ligation et réparation de la cassure (McKinnon et Caldecott 2007). Par exemple, la persistance d'une liaison ADN-TOP1 est délétère pour la cellule, car elle bloque les polymérases d'ADN ou d'ARN. TDP1 trouve ici sa fonction en hydrolysant la liaison ADN-TOP1, libérant ainsi une extrémité 3'-phosphate qui pourra être transformée en 3'-OH par PNKP. Un deuxième exemple est celui d'APTX, qui possède une activité déadénylase d'ADN. Elle permet de transformer une extrémité 5'-AMP issu d'une réaction de ligation ratée en 5'-phosphate. FEN1, nécessitant la présence de PARP1 et PCNA, retire alors l'extrémité 5' endommagée. Le vide résultant est comblé par la polymérase POL beta.

Enfin, la ligation, dépendante de PCNA et XRCC1, est réalisée par LIG1 ou LIG3 (Lan et al. 2004; McKinnon et Caldecott 2007).

b) Les cassures double-brin (CDB)

Les cassures double brin de l'ADN (CDB) sont les lésions les plus délétères pouvant affecter le génome (S. P. Jackson et Bartek 2009). Si elles ne sont pas prises en charge, celles-ci peuvent mener à la mort cellulaire ou à une instabilité génomique en favorisant par exemple l'apparition de translocations. Ces cassures peuvent survenir à la suite de l'action de ROS endogènes issu du métabolisme cellulaire ou durant une étape défectueuse de la réplication ou réparation de l'ADN. La recombinaison V(D)J, la recombinaison méiotique et la recombinaison de classe des immunoglobulines font aussi intervenir des CDB. Enfin, elles peuvent également être générées par des sources exogènes comme l'irradiation aux rayons X ou certains composés utilisés en chimiothérapie (S. P. Jackson et Bartek 2009; Ciccia et Elledge 2010; Tubbs et Nussenzweig 2017).

Une CDB peut posséder une ou deux extrémités. La plupart des CDB à une extrémité surviennent lors de la réplication. Cela peut être due à un effondrement de la fourche de réplication après une CSB, ou à l'action d'une nucléase après blocage du complexe de réplication. Les CDB à deux extrémités se forment généralement lorsque les deux brins d'ADN cassent de façon simultanée ou lorsque deux CSB se retrouvent à proximité l'une de l'autre. Dans ce dernier cas, la CDB possèdera une extension simple-brin de part et d'autre de la cassure (Ranjha, Howard, et Cejka 2018). Les extrémités d'une cassure, en fonction de leur origine, peuvent porter des modifications chimiques ou un groupement supplémentaire comme une liaison covalente avec une protéine. Les cassures générées par des nucléases sont généralement « nues » (sans modification) à l'inverse des cassures générées par RI (Gerelchuluun et al. 2015; Deshpande et al. 2016). D'une manière similaire, une CDB induite par une topoisomérase déficiente résultera en une liaison avec cette topoisomérase à une des extrémités (Williams et al. 2014; Marechal et Zou 2013). L'état dans lequel se trouvent les extrémités aura alors une influence sur le mécanisme de réparation.

La réparation de ces cassures est réalisée par deux voies majeures : la voie de recombinaison homologue (RH) et la jonction des extrémités non-homologues (NHEJ). La voie de recombinaison

homologue intervient essentiellement lors de la phase S/G2 du cycle cellulaire car elle requiert la présence d'une séquence homologue (une chromatide sœur par exemple) pour la réparation. La voie NHEJ, quant à elle, est active tout au long du cycle cellulaire. Celle-ci peut être subdivisée en deux voies distinctes : la voie cNHEJ (pour NHEJ classique) et la voie alt-NHEJ (pour NHEJ alternative) aussi appelée MMEJ (pour microhomology mediated end joining). Pour plus de clarté, les termes cNHEJ et MMEJ seront retenus pour la suite (Chang et al. 2017).

Les voies HR et NHEJ possèdent une étape commune de reconnaissance via le complexe MRN composé de trois protéines : MRE11, RAD50 et NBS1 (pour Nijmegen breakage syndrome 1). Ce complexe agit comme détecteur de la cassure et recrute une protéine kinase appelée ATM (pour Ataxia Telangectasia Mutated). Cette protéine kinase possède un rôle important dans la signalisation des cassures et va transmettre le signal de dommages à de multiples cibles telles des protéines du checkpoint cellulaire, des remodeleurs chromatinien ou des acteurs de la réparation. L'action d'ATM aura également pour effet de stopper le cycle cellulaire afin de permettre une réparation de la lésion (Williams et al. 2014; Marechal et Zou 2013).

c) La voie de jonction des extrémités non-homologues (NHEJ)

Cette voie se divise en trois parties menant à la ligation des deux extrémités de la cassure à proximité l'une de l'autre : 1) la détection de la cassure, 2) la prise en charge des extrémités afin d'éliminer toute modification ou lésion encore présente au site de dommages, 3) la ligation des extrémités résultant de l'étape précédente. Cette voie de réparation n'est donc pas sans erreur surtout lorsque les extrémités doivent être modifier afin de permettre leur ligation (Bétermier, Bertrand, et Lopez 2014).

Les voies cNHEJ et MMEJ diffèrent au niveau des mécanismes employés pour la jonction des extrémités. La voie cNHEJ ne requiert aucune homologie de séquence. La voie MMEJ, qui agit de manière indépendante des facteurs clés de la voie cNHEJ, nécessite la présence d'une homologie de séquence (de 2 à 20 nucléotides) sur chacune des extrémités afin de pouvoir réparer la cassure (Seol, Shim, et Lee 2018). Elle peut parfois être considéré comme étant à mi-chemin entre la voie cNHEJ et la voie HR.

i) La voie NHEJ classique : cNHEJ.

Une des particularités principales de la voie NHEJ est qu'elle ne requiert aucune matrice de réparation et est active tout au long du cycle cellulaire. Elle représente donc la voie de réparation majoritaire des CDB. Cependant, l'absence de matrice de réparation pour cette voie est à l'origine de petites modifications du génome au niveau du site de cassure et rend également possible l'apparition de réarrangements chromosomiaux ou de délétions importantes si plusieurs CDB sont présentes au même moment (Chang et al. 2017). Il est important de préciser également que la voie NHEJ ne peut réparer que des CDB à deux extrémités et qu'elle se montre moins efficace si les extrémités ne sont pas chimiquement « propres ». Pour simplifier, cette voie permet une réparation rapide, mais soumise à de potentielles erreurs, des CDB.

La première étape de la voie cNHEJ se fait via la liaison de l'hétérodimère Ku70/Ku80 au niveau des extrémités. Cette hétérodimère Ku forme une structure en forme d'anneaux qui encercle les deux brins d'ADN de part et d'autre de la cassure (J. R. Walker, Corpina, et Goldberg 2001; Fell et Schild-Poulter 2015). Cette étape empêche une dégradation des extrémités et initie le recrutement d'autres facteurs. Les deux extrémités ainsi protégées sont alors stabilisées par DNA-PKcs (pour DNA-dependent protein kinase catalytic subunit), avant d'être reliées par le complexe XRCC4-Cernunnos et LIG4. Le rôle du complexe MRN, permettant l'activation d'ATM, n'est donc pas essentiel pour la voie NHEJ (Kakaroukias et al. 2014; Chiruvella, Liang, et Wilson 2013; Aparicio, Baer, et Gautier 2014).

Si les extrémités ne sont pas joignables directement, différents acteurs pourront être recrutés afin de préparer au mieux ces dernières pour l'étape de ligation. Cela peut être le cas lorsqu'une extension simple-brin ou un groupement chimique sont présents sur l'une des extrémités de la CDB. Par exemple, DNA-PKcs peut activer la nucléase Artemis, qui va générer une extension 3' simple brin (Chang et al. 2017; Löbrich et Jeggo 2017). Une fois l'action d'Artemis terminée, la kinase-phosphatase PNKP (déjà mentionnée dans la voie de réparation des CSB) est recruté via son interaction avec le complexe XRCC4-LIG4 afin de retirer tout groupement 3'-phosphate restant ou d'ajouter un groupement phosphate à une extrémité 5' de l'ADN. D'autres nucléases pourront aussi intervenir en fonction de la modification à opérer, incluant ainsi de nouveaux effecteurs de la réparation comme APLF, WRN, le complexe MRN, FEN1 ou encore EXO1 (Chang et al. 2017). Une étape de synthèse peut également être nécessaire afin de combler un vide de séquence. Celle-ci est réalisée par des polymérase d'ADN comme Pol(μ) ou Pol(λ) (Bebenek, Pedersen, et Kunkel 2014; A. F. Moon et al. 2014; Pryor et al. 2015).

Des facteurs comme 53BP1, RIF1 ou PTIP permettent de limiter la résection des extrémités et favorise la réparation par la voie NHEJ (Noordermeer et al. 2018). Lorsque les extrémités ont été correctement préparées, une interaction entre le complexe XRCC4-LIG4, Cernunnos (aussi nommé XLF) et PAXX initie la jonction des extrémités et leur ligation (Williams et al. 2014; Mahaney et al. 2013; Ochi, Wu, et Blundell 2014; Abramowski et al. 2018; J. L. Wang et al. 2018).

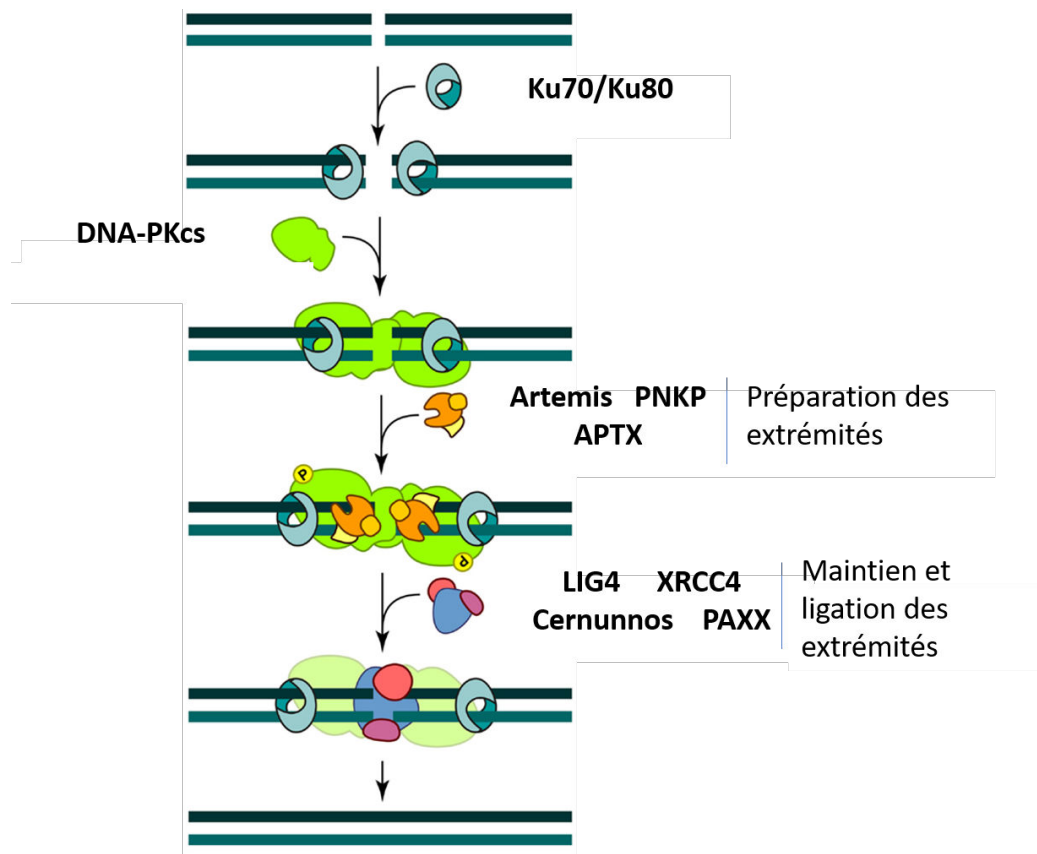


Schéma 6 : Illustration de la voie NHEJ classique

ii) La voie MMEJ :

En l'absence d'un facteur clé de la voie cNHEJ, comme Ku70/Ku80, DNA-PKcs, XRCC4, Cernunnos (XLF) ou LIG4, la cellule peut réparer une CDB via la voie MMEJ (Chang et al. 2017). Des facteurs empruntés à d'autres voies de réparation, en particulier la voie RH, sont alors utilisés comme PARP1, le complexe MRN, CtIP, DNA2 et la polymérase Pol(theta ou Q), XRCC1 et LIG3 (Audebert, Salles, et Calsou 2004; Decottignies 2007; Bennardo et al. 2008; Simsek et al. 2011; Howard, Yanez, et Stark 2015; Mateos-Gomez et al. 2017; Seol, Shim, et Lee 2018).

Dans cette voie, la CDB est détectée par PARP1. Ce facteur permet le recrutement du complexe MRN et de CtIP. Ces derniers génèrent la formation d'une extension 3' simple-brin grâce à leur activité exonucléase 3'-5' (Truong et al. 2013; Takeda et al. 2007; Paull 2010). Une résection plus importante pourra être réalisée via l'action de BLM-EXO1 (Truong et al. 2013; Gravel et al. 2008; Z. Zhu et al. 2008; Mimitou et Symington 2008). Cependant, si cette dernière est trop importante, une réparation via la voie RH sera priorisée (Truong et al. 2013; S. K. Deng et al. 2014). Une fois exposée par la résection, les séquences de micro-homologie, situées de part et d'autre de la cassure (allant de deux à quelques dizaines de nucléotides), peuvent se lier par complémentarité (Kent et al. 2015). Les extensions non-homologues restantes sont retirées par l'action du complexe XPF-ERCC1 (Ahmad et al. 2008). Les vides de séquences résultants sont dans ce cas comblés par Pol(theta) (R. D. Wood et Doublé 2016) avant que LIG1 ou LIG3 ne scellent les extrémités (Huichen Wang et al. 2005; Liang et al. 2008). Enfin, il est important de préciser que PARP1 et l'interaction XRCC1-LIG3 sont requis pour la modification des extrémités et le recrutement de Pol(theta) (Mateos-Gomez et al. 2015).

d) La voie de recombinaison homologue (RH)

La voie RH nécessite la présence d'une matrice de réparation sous forme de séquence homologue. Cette dernière sert de guide pour une réparation sans erreurs (Kowalczykowski 2015). Cela permet également de restaurer un fragment d'information génétique qui aurait été perdu lors de la cassure. De manière générale, la chromatide sœur présente en phase S est utilisée comme matrice de réparation. La voie RH trouve ainsi son activité restreinte aux phases S et G2 du cycle cellulaire (Orthwein et al. 2015). Elle est en revanche capable de réparer des CDB à une ou deux

extrémités, qu'elles soient chimiquement modifiées ou non. La voie RH est donc plus complexe dans son mécanisme que la voie NHEJ. Elle comprend aussi plus d'effecteurs et est donc plus lente (Kowalczykowski 2015; Chang et al. 2017).

Le début de la voie RH est marqué par une résection 5'-3' des extrémités de la cassure afin d'obtenir une extension simple brin en 3' qui permettra un échange avec la chromatide sœur. Cette étape de résection est issue de l'interaction entre le complexe MRN et la protéine CtiP (pour CtbP-interacting protein). C'est le facteur MRE11, membre du complexe MRN, qui catalyse cette activité endo- et exonucléases de CtiP (Shibata et al. 2014). Il est important de préciser que cette étape, initiée par MRE11, requiert l'activité ATPase de RAD50, et la présence de CtiP et NBS1 comme cofacteurs (Anand et al. 2016; J. H. Kim et al. 2017). Cette étape de résection peut également faire appel à d'autres acteurs comme EXO1 et BLM (pour Bloom syndrome helicase). Cette résection « bidirectionnelle » déclenche la formation d'une extension simple-brin de plusieurs kilobases. EXO1 et DNA2 sont deux nucléases en charge de cette extension (Gravel et al. 2008; Z. Zhu et al. 2008). EXO1 est une exonucléase spécifique de l'ADN double-brin, générant une extension 3' simple-brin. DNA2, en revanche, est une nucléase spécifique de l'ADN simple-brin avec une activité 5'-3' et nécessite la présence d'une hélicase de la famille RecQ, WRN ou BLM, comme partenaire (Pinto et al. 2016; Levikova, Pinto, et Cejka 2017).

Les extensions 3' simple-brin sont recouvertes petit à petit par une multitude de protéines RPA, promouvant l'action de DNA2 et protégeant l'extension 3' de la dégradation (Nimonkar et al. 2011; H. Chen, Lisby, et Symington 2013; Tamaro et al. 2015). Une fois formée, l'extrémité simple-brin recouverte par RPA entraîne l'activation d'ATR via ATRIP (Zou 2003).

RPA est ensuite remplacé par RAD51. Cette étape est une étape clé de la voie RH. Elle permet la recherche d'une séquence homologue et l'attachement à la matrice de réparation portant cette dernière (ex : chromatide sœur) (Taylor et al. 2015; Brouwer et al. 2018; Subramanyam et al. 2018). Le remplacement de RPA par RAD51 est favorisé par l'activité de plusieurs facteurs comme BRCA2-PALB2, BRG1-RAD52 (Buisson et al. 2010; Qi et al. 2015) et mène à la formation d'un filament nucléoprotéique appelé « filament présynaptique ».

L'invasion de ce dernier, au sein du double-brin d'ADN de la matrice de réparation, est orchestré par l'action directe de BRCA1-BARD1 (W. Zhao et al. 2017). Cependant, le mécanisme de recherche de la matrice est encore mal compris. Il a été montré que les extrémités de CDB sont physiquement relocalisées à la périphérie du noyau (Chiolo et al. 2011; Horigome et al. 2014; Ryu et al. 2015). Lors de cette relocalisation, le filament présynaptique « sonderait » le génome au travers

de multiples contacts avec différentes séquences d'ADN, celles-ci présentant un certain pourcentage d'homologie. Les contacts avec des séquences ne correspondant pas seraient alors instables et trop courts temporellement pour permettre une invasion du filament nucléoprotéique (Renkawitz, Lademann, et Jentsch 2014; Qi et al. 2015).

L'invasion de ce dernier entraîne la séparation du double-brin d'ADN de la matrice de réparation. Cette séparation est marquée par le déplacement du brin portant l'homologie de séquence (brin non-complémentaire) et la formation d'une structure appelée « D-loop », sous-forme d'une jonction de Holliday. Cette structure est stabilisée via un recouvrement par RPA de la D-loop (Eggleter, Inman, et Cox 2002). L'association par complémentarité entre le filament présynaptique et son brin complémentaire est possible grâce à la dissociation de RAD51. Cette dissociation est due à l'activité de RAD54, qui favorise ainsi la stabilité de la « D-loop » (W. D. Wright et Heyer 2014). La synthèse d'ADN, nécessaire à cette étape de la réparation, est réalisée par les polymérases Pol(delta) et Pol(eta) (McIlwraith et al. 2005; Kawamoto et al. 2005; M. A. Wilson et al. 2013). Cette néosynthèse permet de récupérer l'information génétique qui aurait pu être perdue lors de la cassure. Il est important de préciser que cette étape d'invasion du filament nucléoprotéique est contrôlée par de nombreux facteurs et mécanismes afin d'éviter une recombinaison de séquences non-homologues. Un tel événement pourrait s'avérer extrêmement toxique pour la cellule, en générant des translocations chromosomiques et donc une instabilité du génome (Heyer 2015).

A ce niveau de la voie RH, il est important de préciser que celle-ci peut être subdivisée en plusieurs voies sous-jacentes qui sont le « synthesis-dependent strand annealing » (SDSA), la réplication induite par cassure (BIR : break-induced replication) et la voie de réparation classique des CDB (cRH) (Kowalczykowski 2015). La différence entre ces sous-voies est observable dans les produits finaux de la réparation. Certains seront caractérisés par la présence d'un crossover (ou croisement) alors que d'autres n'en posséderont pas. Les crossovers sont définis comme un échange au niveau chromosomique entre le brin d'ADN réparé et le brin d'ADN ayant servi de matrice de réparation. Un crossover ayant lieu entre deux chromatides sœurs dans des loci non-homologues pourra donner lieu à un réarrangement chromosomique (Wahba, Gore, et Koshland 2013; West et al. 2015).

i) Résolution par BIR :

La jonction des brins d'ADN est stabilisée par RAD54 et l'étape de synthèse, réalisée par Pol(delta), se poursuit tout au long du brin d'ADN, jusqu'à l'extrémité chromosomique, grâce à l'activité hélicase de Pif1 (M. A. Wilson et al. 2013; Sakofsky et Malkova 2017).

ii) Résolution par SDSA :

Une fois la synthèse des fragments d'ADN manquants réalisée, la D-loop est déstabilisée. La matrice de réparation reprend sa structure en double-brin d'ADN et le simple-brin rallongé se lie à sa séquence complémentaire sur l'autre extrémité de la cassure (Kowalczykowski 2015). L'équilibre, entre cette voie et une résolution classique de la voie RH, est dépendant de facteurs régulant la stabilité de la D-loop (Daley et al., s. d.).

iii) Résolution classique de la voie RH :

Dans le cas d'une résolution classique, la deuxième extrémité de la cassure se lie par complémentarité au simple brin écarté de la matrice de réparation, formant ainsi une double jonction de Holliday (Matos et West 2014). La résolution de cette double jonction de Holliday est réalisée par une réaction de dissolution. Cette dissolution nécessite la migration des jonctions de Holliday l'une vers l'autre. Cette étape est possible grâce à l'action de BLM (Imai et al. 2003; Catalan et al. 2003; Carol E. Schrader et al. 2005) et de la topoisomérase TOPOIII (S. H. Chen et al. 2014), et mène à la formation d'une structure appelée « hémicatane ». Cette structure est spécifiquement résolue par le facteur RMI1 (Bocquet et al. 2014). La résolution de ces doubles jonctions d'Holliday résulte en deux double-brins d'ADN sans crossovers.

Les jonctions qui échappent à une résolution par dissolution, comme la voie SDSA, font intervenir des nucléases spécifiques capable de résoudre une jonction de Holliday, comme MUS81-EME1, SLX1-SLX4, GEN1 ou encore XPF-ERCC1 (Wyatt et al. 2013, 2017). Les brins résultants peuvent alors être porteurs de crossovers.

En conclusion, bien que la réparation des CDB permette d'éviter une mort cellulaire, les voies de réparation peuvent être mutagènes et sont les principales sources d'instabilité chromosomique après dommages à l'ADN. La voie cNHEJ peut entraîner l'insertion ou la délétion de petits fragments (indels) au niveau de la cassure. Ces derniers sont dus à l'action de différentes nucléases et polymérases, avant la ligation des extrémités. La voie MMEJ est considérée comme la

voie de réparation la plus mutagène. Celle-ci se termine toujours par la délétion de fragments d'ADN situés entre la cassure et la séquence de micro-homologie. Enfin, la voie RH est considérée comme la voie de réparation la plus fidèle. Il faut cependant noter que la résolution des CDB par cette dernière peut mener à la formation de crossovers. Si ces crossovers sont formés entre des chromosomes non-homologues, ils peuvent alors devenir une source d'instabilité chromosomique.

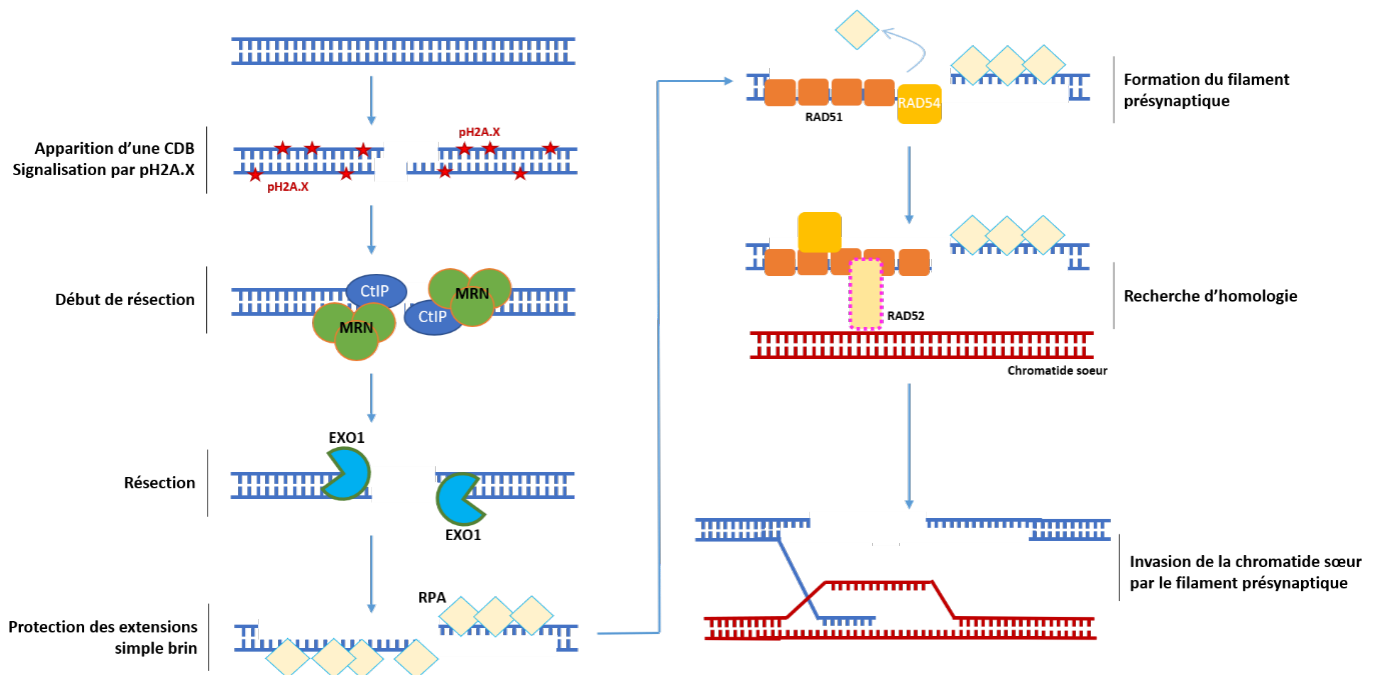


Schéma 7 : Illustration des premières étapes de la voie RH

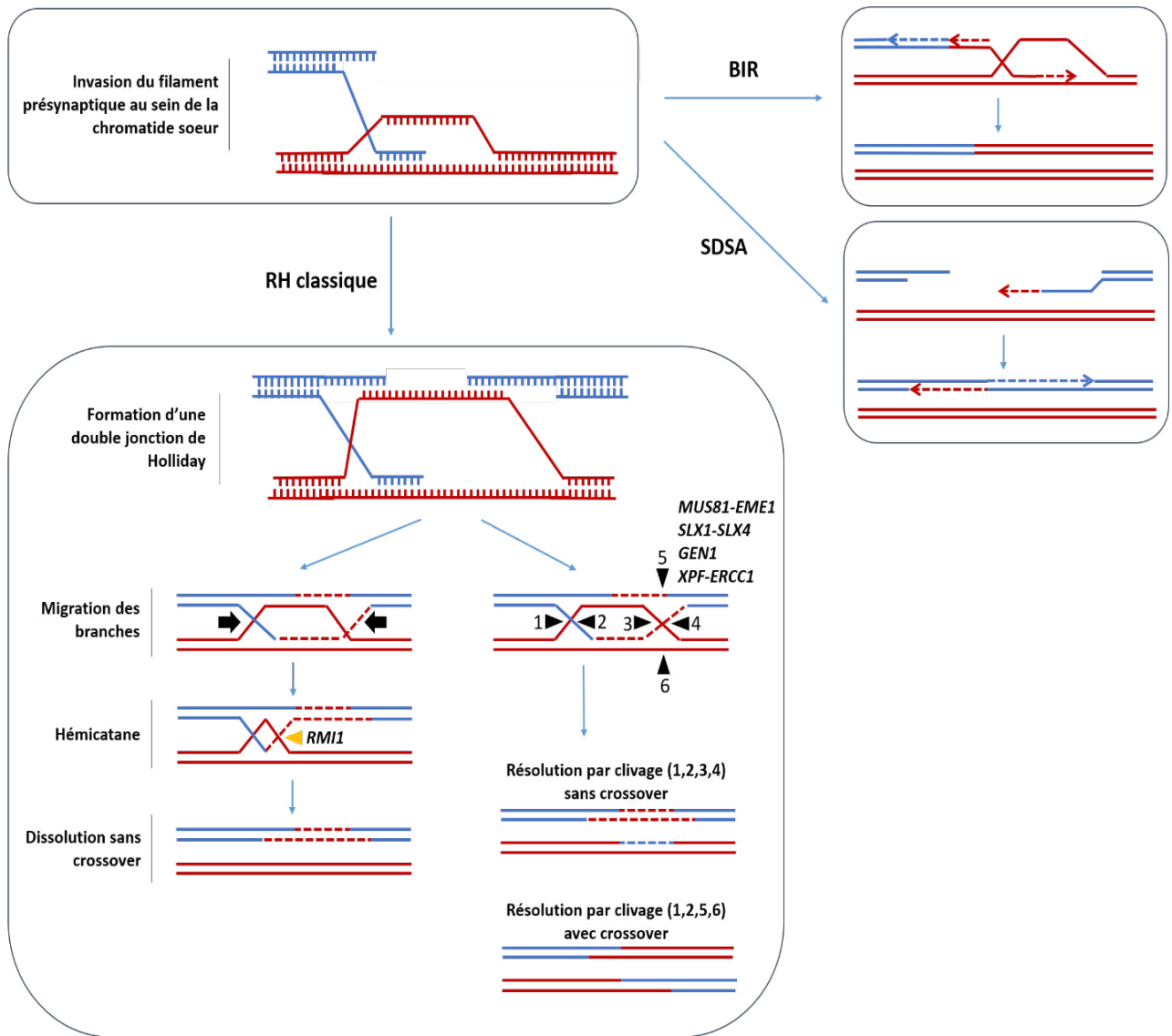


Schéma 8 : Illustration des possibilités de résolution de la voie RH

4) Cas particulier : les CDB physiologiques

Toutes les CDB ne sont pas aléatoires ou pathologiques. Certains processus physiologiques produisent ces dernières, afin de générer une diversité génétique au sein de types cellulaires particuliers, et illustrent de façon intéressante la plasticité des mécanismes de réparation de l'ADN.

a) Système immunitaire et voie NHEJ

i) La recombinaison V(D)J :

La recombinaison V(D)J est un processus se déroulant lors du développement des lymphocytes T et B. Il implique le réarrangement de régions du génome contenant les gènes des immunoglobulines (Arya et Bassing 2017). L'assemblage aléatoire de segments géniques V (variable), D (diversity) et J (joining) permet de générer une grande variété de récepteurs aux antigènes avec un nombre limité de gènes. De façon paradoxale, la « recombinaison » V(D)J fait intervenir la voie cNHEJ et n'implique pas la voie RH.

La recombinaison V(D)J est initiée par les recombinases RAG1 et RAG2, deux facteurs uniquement exprimés dans les lymphocytes en développement (Schatz et Swanson 2011). L'hétérodimère RAG1/2 se lie aux séquences signal de recombinaison (RSS) bordant les segments géniques V, D et J ; et génère une coupure entre ces RSS et la région génique bordante. Il existe deux types de RSS, se distinguant par l'espacement entre deux séquences géniques adjacentes. Cet espacement peut être de 12 ou 23bp, donnant ainsi des séquences RSS12 et RSS23, qui sont alors rapprochées l'une de l'autre par les complexes RAG. La coupure effectuée par ces complexes forme deux extrémités différentes. Les extrémités se trouvant sur les parties codantes (ou coding end) possèdent une forme dite « épingle à cheveux » (ou hairpin). A l'inverse, les extrémités non codantes (ou signal-end) se trouve sous forme d'une coupure franche. Ces dernières, situées sur le même brin d'ADN excisé, sont reliées l'une à l'autre et forment ainsi un double brin d'ADN circulaire, le TREC (pour T-cell receptor excision circle) qui sera « dilué » lors des divisions cellulaires successives. En parallèle, une extrémité codante en « épingle à cheveux » RSS12 est liée à une extrémité codante en « épingle à cheveux » RSS23 par la voie NHEJ. De manière plus détaillée, Ku70-80 se lie à chacune des extrémités codantes avec DNA-PKcs. L'autophosphorylation de DNA-PKcs entraîne le recrutement d'Artemis, qui ouvre la structure « épingle à cheveux » de chacune

des extrémités via son activité endonucléase. Enfin, le complexe XRCC4-Cernunnos-LIG4 procède à la ligation de ces dernières (Rivera-Munoz et al. 2007; Roth 2014; Ebert, Hill, et Busslinger 2015).

Le produit de cette recombinaison forme ainsi une séquence d'ADN codant, issue d'un réarrangement aléatoire d'un fragment V, D puis J (Schatz et Swanson 2011; de Villartay et al. 2003).

ii) La recombinaison de classe des immunoglobulines :

La recombinaison de classe des Immunoglobulines (CSR pour class switch recombination) est un phénomène se produisant uniquement dans les lymphocytes B activés. Il mène à un changement d'isotypes d'un anticorps. Ce processus est initié par l'action d'AID (activation-induced cytidine deaminase) (Muramatsu et al. 2007, 2000; Revy et al. 2000). AID désamine spécifiquement les cytosines en uraciles, entraînant la formation de mésappariements U:G qui sont pris en charge par UNG pour générer des sites abasiques qui sont ensuite convertis en CSB. Contrairement aux facteurs RAG1/2, AID est actif sur des zones d'ADN plus larges, pouvant aller de 1 à 3 kbp. Ces dernières, situées en amont de régions codant les chaînes lourdes des immunoglobulines, sont riches en séquences répétées et sont appelées « régions switch ». Ainsi au sein de ces régions, lors de la CSR, l'exon C(mu) est échangé pour un exon C(gamma), (epsilon) ou (alpha). Ce changement entraîne respectivement la modification isotypique d'un IgM en IgG, IgE ou IgA (Methot et Di Noia 2017).

Cette modification génique est rendue possible grâce aux mésappariements U:G orchestrés par AID. Ces derniers sont majoritairement réparés par la voie BER, générant des CSB comme produits intermédiaires de la réparation (Imai et al. 2003; Catalan et al. 2003; Carol E. Schrader et al. 2005). La proximité de nombreuses CSB mène alors à la formation de CDB (C. E. Schrader et al. 2007; Bregenhorn et al. 2016), entraînant l'éviction d'un fragment du génome au niveau des séquences codantes pour les chaînes lourdes des immunoglobulines. Certaines CDB possèdent une extension simple-brin qui devra être résolu avant jonction des extrémités via la voie NHEJ (cNHEJ ou MMEJ) (Lee-Theilen et al. 2011; Cortizas et al. 2013). De façon intéressante, le complexe MRN apparaît comme important pour la CSR en promouvant la réparation des cassures via la voie NHEJ (Dinkelmann et al. 2009).

b) Méiose et voie RH

La méiose est une étape de division cellulaire requise pour le bon développement des gamètes, via une haploïdisation du génome (Loidl 2016; Ohkura 2015). Tout comme les mécanismes décrits précédemment, la recombinaison méiotique repose sur la formation de CDB, induites ici par une transtérèse conservée de la levure aux mammifères, SPO11 (Robert et al. 2016; Scott Keeney 2008; Mahadevaiah et al. 2001). Leur réparation est réalisée par la voie RH (Krejci et al. 2012).

Les CDB sont introduites durant la première division méiotique. SPO11 coupe les double-brins d'ADN en restant ensuite attachée aux extrémités 5' générées. La première étape de réparation fait donc intervenir le complexe MRN et CtIP, afin de résoudre ce type d'extrémité, bloquée par une extension protéique (S. Keeney et Kleckner 1995; Neale, Pan, et Keeney 2006). L'extension 3' simple-brin générée par la résection est recouverte par RPA, avant d'être remplacé par DMC1 (une protéine d'échange de brin ADN spécifique à la méiose) et RAD51 (Bugreev et al. 2011; Cloud et al. 2012). La recombinaison est alors régulée par un complexe spécifique de la recombinaison méiotique, HOP2-MND1 (Enomoto et al. 2006; Roberto J. Pezza, Camerini-Otero, et Bianco 2010). Cet hétérodimère stabilise le filament nucléoprotéique ADN-RAD51/DMC1, et favorise ainsi l'invasion de ce dernier au sein du chromosome homologue (R. J. Pezza et al. 2007).

En plus d'une différence d'effecteurs avec une réparation par voie RH classique, il faut noter une différence lors du choix de la matrice de recombinaison. En effet, les cellules en méiose utilisent préférentiellement une séquence du chromosome homologue plutôt que de la chromatide sœur (Loidl 2016; Qiao et al. 2012).

Enfin, une grande partie de ces recombinaisons méiotiques sont résolues avec un crossover, afin d'assurer un brassage d'information génétique pour les générations futures. Cependant, le mécanisme permettant d'assurer une proportion élevée de résolution sous forme de crossover reste encore mal compris (S. Wang et al. 2015).

Chapitre 2 : [Défauts des voies de réparation]

Une mutation (issue de la lignée germinale) au sein d'un gène codant un acteur de la réparation peut entraîner un défaut d'une ou plusieurs voies de réparation et le développement d'une maladie génétique rare.

Les premières pathologies associées à un défaut de réparation de l'ADN furent découvertes après observation de patients présentant une hypersensibilité à un stress génotoxique (McKinnon et Caldecott 2007). Ces travaux ont permis de relier plusieurs observations cliniques, comme une hypersensibilité aux UV, à un défaut enzymatique impliquant une voie de réparation de l'ADN. A présent, plus d'une centaine d'acteurs de la DDR ont pu être identifiés et de nombreuses pathologies, au phénotype clinique complexe, ont pu être reliées à ces derniers (Shimizu et al. 2014; Jeppesen, Bohr, et Stevnsner 2011).

La majorité de ces maladies sont de transmission autosomique récessive. Une hétérozygotie peut donc compenser la plupart de ces défauts. Dans quelques cas, les pathologies associées à un défaut de réparation peuvent démontrer des phénotypes hétérogènes au sein d'un même groupe de complémentation. Cependant, le phénotype clinique est souvent similaire lorsqu'une même voie de réparation est affectée.

1) Défauts de la voie BER et MMR

a) Défauts de la voie BER

La voie BER permet de corriger des modifications « simples » du génome, telles des alkylations ou oxydations d'une base. Il existe peu de pathologies associées à la voie BER. Par exemple, une perte d'activité de la glycosylase NTHL1 mène à une polypose adénomateuse familiale (Weren et al. 2015). Une perte d'activité de l'ADN glycosylase UNG entraîne le développement d'une immunodéficiences avec un syndrome d'hyper IgM causé par un défaut de recombinaison isotypique des immunoglobulines (Imai et al. 2003). La perte d'effecteurs plus centraux de la voie BER, tels PNKP, XRCC1 ou APTX par exemple, mène à une neurodégénération (Dumitrache et McKinnon 2017; B. Jiang, Glover, et Weinfeld 2017). Cependant, ce phénotype n'est

pas attribuable uniquement à un défaut de la voie BER car une mutation du gène *ATM*, *ERCC6* (codant la protéine CSB) ou *ERCC8* (codant la protéine CSA) ainsi qu'*XPA* démontre également des symptômes de neurodégénération (Hayashi et al. 2005; Baez et al. 2013; J. Li et al. 2012; Sanchez-Roman et al. 2018). Ces observations démontrent néanmoins l'importance des dommages causés à l'ADN par les ROS et l'importance de la voie BER face à ces derniers.

b) Défauts de la voie MMR

La voie MMR est principalement impliquée dans la réparation d'erreurs issues de la mauvaise incorporation d'une base après répllication générant des mésappariements (Thomas A. Kunkel et Erie 2005). Ces mésappariements peuvent donc être une source importante de mutations. Une des premières causes identifiées de cancers colorectaux héréditaires a été une accumulation de mutations au sein de régions appelées « microsatellite » due à un défaut de la voie MMR. En effet, ces régions particulières du génome sont riches en petites séquences répétées sur lesquelles l'ADN polymérase peut facilement « glisser » (Leach et al. 1993).

Il semble donc logique qu'un défaut de cette voie mène à l'accumulation de mutations et à une transformation cellulaire.

2) Défauts de la voie NER

La voie NER prend en charge des lésions plus importantes du génome, pouvant parfois déformer la structure en double hélice de ce dernier, telles des dimères de pyrimidine (CPD) induits par irradiation UV (Marteijn et al. 2014). Elle fut la première voie de réparation à être impliquée dans une pathologie, à savoir Xeroderma Pigmentosum (XP). Un autre exemple d'implication de la voie NER est la perte d'activité de la voie TC-NER via une mutation des gènes *ERCC6* ou *ERCC8*, menant à un Syndrome de Cockayne (CS) (B. T. Wilson et al. 2016).

a) Xeroderma Pigmentosum (XP)

La pathologie Xeroderma Pigmentosum (XP) est une maladie génétique rare, autosomique récessive, avec une prévalence d'un sur un million en Europe (Kleijer et al. 2008). Elle se caractérise

par une sensibilité à la lumière du soleil, et est donc associée à un risque élevé de cancers des zones exposées aux UV, comme la peau ou certaines muqueuses (DiGiovanna et Kraemer 2012).

Les symptômes caractéristiques de cette maladie sont une xerosis (assèchement et durcissement de la conjonctive de l'œil) et une poikilodermie (affection cutanée, qui associe une atrophie de l'épiderme, une dyschromie et des télangiectasies). Comme mentionné plus haut, une sensibilité de la peau à une exposition au soleil de patients XP est également un marqueur de cette pathologie. En effet, plus de la moitié de ces patients montre des signes de brûlures cutanées après une exposition courte au soleil (Kraemer et al. 2013; Totonchy et al. 2013). Environ un quart de ces patients développent des symptômes neurologiques incluant une microcéphalie, une ataxie du cervelet, une surdité ou une détérioration des capacités motrices ou mentales (A. R. Lehmann 2011; Kraemer et al. 2007). Ces patients souffrent également d'une forte prédisposition aux cancers de la peau (mélanomes), avec une apparition moyenne de ces derniers avant l'âge de dix ans. Une prédisposition à d'autres types de cancers comme des tumeurs du système nerveux central est également à déplorer (Bradford et al. 2011). Cette prédisposition aux cancers des patients atteints de XP peut s'expliquer par l'accumulation de lésions, au sein du génome de cellules en division, qui sont alors ignorées et mènent à une instabilité génétique.

Il existe 8 groupes de complémentation différents chez les patients atteints de XP (XPA à XPG), chacun représentant un effecteur central dans la voie du NER. Les défauts neurologiques cités précédemment se retrouvent ainsi dans 25% des patients portant une mutation dans XPA, XPB, XPD, XPF ou XPG qui affecte la voie TC-NER (Cleaver 2005; Bradford et al. 2011; DiGiovanna et Kraemer 2012). En revanche, les patients ayant une mutation au sein de XPC montrent des défauts de la voie GG-NER et des défauts neurologiques moins sévères (Anttinen et al. 2008). Enfin, certaines mutations spécifiques au sein de XPB, XPD ou XPG ont révélé des phénotypes mêlant XP et syndrome de Cockayne (CS) avec différents degrés d'atteintes cutanées, développementales ou neurologiques (Kraemer et al. 2007; A. Lehmann 2003; Hoeijmakers 2001).

b) Syndrome de Cockayne (SC)

Le syndrome de Cockayne (SC) est une maladie autosomique récessive ayant une prévalence d'environ un sur deux cent cinquante milles individus (Kleijer et al. 2008). Il fut décrit pour la première fois en 1933 par un médecin londonien, Edward Cockayne (Kleijer et al. 2008). Ce

syndrome peut être séparé en deux catégories. Une première catégorie à apparition juvénile avec des degrés variables de sévérité, et une deuxième catégorie à apparition tardive (stade adulte) avec une forme moins sévère de la maladie (Natale 2011). La forme juvénile de SC peut se caractériser par une photosensibilité, une microcéphalie, un retard développemental, une forme de nanisme, une perte de l'audition et/ou une détérioration de certaines fonctions cérébrales (démarche, ...). D'autres symptômes pourront être relevés tels une cataracte et des cheveux grisonnants, des cavités oculaires profondes ou une dégénérescence neurologique progressive (B. T. Wilson et al. 2016; Laugel 2013). Le développement clinique de ce syndrome mime un vieillissement prématuré et est donc considéré comme une forme dérivée de progéria.

Le syndrome de Cockayne (SC) est associé à des mutations dans *CSA* ou *CSB* qui sont des acteurs de la voie TC-NER. En se servant de ces observations comme outil diagnostique, les cellules des patients atteints de SC, et donc d'une altération de la voie TC-NER, sont incapables de retrouver une synthèse d'ARN normale après irradiation aux UV. Il est intéressant de noter que les patients atteints de SC ne présentent pas de prédisposition élevée au cancer comme les patients souffrant de XP, démontrant la différence et l'importance de chaque étape de la voie du NER.

En allant plus loin dans l'étude de cette pathologie, il est à noter que les modèles murins de SC ne montrent pas une sévérité identique au phénotype humain. Un modèle *CSA*^{-/-} murin montre une sensibilité accrue aux UV et une perte liée à l'âge de cellules photoréceptrices de la rétine. En revanche, aucun défaut développemental ou neurologique n'est observable (van der Horst et al. 2002). Un autre modèle que l'on nommera *Csb-K337X* reproduisant une mutation trouvée chez un patient, a montré une sensibilité accrue aux UV et une perte de la synthèse d'ARN après irradiation UV. En revanche, ce modèle murin n'a montré aucun des symptômes les plus sévères retrouvés chez l'Homme, comme une réduction de l'espérance de vie, des problèmes de stérilité ou des défauts neurologiques. A l'heure actuelle, cette différence de phénotype entre humain et souris reste encore difficile à expliquer, et nous montre qu'il est possible d'observer des différences entre l'Homme et d'autres modèles de mammifères au sein d'une même voie de réparation de l'ADN (van der Horst et al. 1997).

c) Trichothidystrophie (TTD)

La trichothidystrophie (TTD) est une maladie autosomique récessive avec une prévalence d'environ un sur un million, décrite pour la première fois en 1971 (Kleijer et al. 2008). Elle possède un tableau clinique proche des patients atteints de XP ou SC, mais présente également d'autres symptômes comme des cheveux cassants, des défauts de croissance, une ichtyose, des défauts oculaires et/ou de nombreuses infections (Morice-Picard et al. 2009; Stefanini et al. 2010; Brooks et al. 2011). Environ 80% des patients atteints de TTD montrent des défauts neurologiques.

Cette pathologie possède trois groupes de complémentation correspondant aux gènes *XPD*, *XPB* et *TTDA* (petite sous unité du complexe TFIIH qui interagit avec *XPD*, et maintient la stabilité du complexe TFIIH). Alors que les patients atteints de XP avec une mutation de *XPB* ou *XPD* montrent une prédisposition accrue aux cancers de la peau, ce n'est pas le cas chez les patients atteints de TTD. Cette observation suggère qu'il existe différentes fonctions pour ces effecteurs entre GG-NER et TC-NER et met en exergue les liens phénotype/génotype que l'on peut observer pour un même facteur affecté (A. Lehmann 2003; Cleaver 2005; Kraemer et al. 2007; Faghri et al. 2008).

Après observation de ces trois pathologies : XP, SC et TTD, un risque élevé de cancers sera préférentiellement associé à une altération de la voie GG-NER, alors qu'un défaut de la voie TC-NER sera plutôt associé à des défauts neurologiques.

3) Défauts de réparation des ICL

La réparation de liaisons covalentes entre deux brins complémentaires d'ADN peut être réalisée par différentes voies (Deans et West 2011). La toxicité de ces liaisons vient de leur capacité à bloquer la transcription et la réplication, menant à des cassures chromosomiques, un arrêt prolongé du cycle cellulaire et éventuellement à une mort cellulaire. Les ICL peuvent être causés par des acétaldéhydes ou formaldéhydes issus du métabolisme cellulaire (Pontel et al. 2015). En phase G0/G1, les ICL semblent être détectés et réparés par la voie NER. En phase S/G2, où ces liaisons sont les plus dangereuses, celles-ci sont prises en charge par la voie Fanconi. Une anémie ou une insuffisance médullaire, observée dans l'anémie de Fanconi, peut être expliquée par un défaut de réparation des ICL qui conduit à une augmentation des dommages de l'ADN résultant en une apoptose dépendante de p53 dans les cellules souches hématopoïétiques (cf Cecarelli, d'André,

Souiler etc). Les cancers qui suivent la progression de cette maladie peuvent également être expliqués par l'instabilité génomique dû à une accumulation d'ICL. Il est important de préciser que certains de ces cancers peuvent être d'origine hématologique, et ne sont cependant pas observés dans un défaut de la voie NER. Le mécanisme exact de réparation de ces lésions reste donc encore mal compris.

L'anémie de Fanconi (FA) est une maladie liée à l'X ou héritée de manière autosomique récessive avec une prévalence d'environ cinq à sept cas sur un million (Malric et al. 2015; Risitano et al. 2016). Elle fut décrite en 1972 par le pédiatre suisse Guido Fanconi.

Les premiers signes de la maladie se manifestent durant la première décennie suivant la naissance avec comme premier symptôme une anémie aplasique progressive. La maladie progresse ensuite vers le développement de lymphomes ou carcinomes, de tumeurs du foie ou du cerveau et une leucémie myéloïde aigue (Jacquemont et Taniguchi 2007). La peau révèle également une hyper- et hypopigmentation ainsi qu'une télangiectasie. L'anémie de Fanconi (FA) peut être causée par des mutations de différents gènes, et les patients sont donc classés en fonction de plusieurs groupes de complémentation. Les protéines concernées forment une voie de réparation de l'ADN, la voie Fanconi, via leur interaction (voir chapitre 1). Les cellules affectées par une déficience d'une de ces protéines montrent une hypersensibilité aux ICL et donc aux agents pontants de l'ADN comme le cisplatine ou MMC par exemple (Grillari, Katinger, et Voglauer 2007).

4) Défauts de réparation des CDB

a) Défauts de la voie NHEJ

La voie NHEJ peut mener à l'insertion d'erreur au sein du génome, via le raboutage d'extrémités sans utilisation d'une matrice de réparation. Cette voie est également essentielle pour certains processus physiologiques et notamment au sein du système immunitaire. Dans les lymphocytes, la recombinaison V(D)J débute par la génération de CDB au sein de séquence spécifiques du génome (Rivera-Munoz et al. 2007). La recombinaison génétique qui suit ces cassures permet le développement de l'immunité adaptative, par diversification du répertoire TCR pouvant être générés. Les patients souffrant d'un défaut de la voie NHEJ dû à une mutation des

gènes codant Artemis (Moshous et al. 2001), LIG4 (O'Driscoll et al. 2001), DNA-PK (Mathieu et al. 2015) ou Cernunnos (Buck et al. 2006) montrent une immunodéficiência combinée sévère (SCID) provenant d'un défaut de recombinaison V(D)J, une radiosensibilité accrue ainsi qu'une microcéphalie (à l'exception des patients Artemis). De façon intéressante, des modèles murins possédant un défaut de Ku70, Ku80, DNA-PKcs ou Artemis montrent une radiosensibilité accrue et un phénotype SCID comparable aux patients mentionnés ci-dessus (Hakem 2008). Un défaut au niveau de XRCC4 ou LIG4 dans ces modèles révèle une létalité embryonnaire (Barnes et al. 1998; Y. Lee 2000), alors qu'un défaut de Cernunnos ne révèle aucun phénotype SCID, mais une hypersensibilité aux RI (Buck et al. 2006; G. Li et al. 2008). Il est également important de préciser que les mutations affectant LIG4 sont hypomorphes chez l'Homme, suggérant une incompatibilité d'un défaut complet avec la vie, comme c'est le cas chez la souris (Altmann et Gennery 2016). Ces observations nous montrent l'importance de ces facteurs dans la résistance des cellules aux radiations ou le bon déroulement de processus physiologiques. Il est également important de noter les différences de phénotype pour certains facteurs entre un patient humain et un modèle d'étude animal, comme c'est le cas pour Cernunnos(XLF).

b) Défauts de la voie RH

Par sa complexité, la voie RH implique un grand nombre d'effecteurs, laissant deviner une association de celle-ci avec plusieurs pathologies.

Par exemple, des mutations affectant la fonction de MRE11, un composant du complexe MRN mène à une neurodégénération sans immunodéficiência associée (Stewart et al. 1999). De façon intéressante, une perte d'activité de NBS1, un autre membre du complexe MRN et partenaire de MRE11 dans les étapes précoces de la DDR, se caractérise par un syndrome de Nijmegen avec un phénotype différent, suggérant d'autres fonctions au complexe MRN en plus de sa participation dans la voie RH.

i) Le syndrome de Nijmegen :

Le syndrome de Nijmegen porte le nom de la ville hollandaise où il fut décrit pour la première fois en 1981 (Weemaes et al, 1981). Sa prévalence est estimée à environ un sur trois millions (Carlomagno et al, 1999). Dans les premiers mois de vie, les patients atteints de ce

syndrome souffrent d'une microcéphalie sévère. Les autres symptômes caractéristiques de cette pathologie sont un retard de croissance et un retard mental, une affection cutanée sous formes de tâches « café-au-lait », une immunodéficience sévère et une sensibilité à la lumière solaire (Seeman et al. 2004; Digweed et Sperling 2004). Ces patients présentent également une prédisposition élevée au cancer. Des porteurs hétérozygotes de mutation dans le gène *NBS1* ont également un risque élevé à développer des lymphomes, des cancers du sein ou colorectaux (Steffen et al. 2004).

Ce syndrome de Nijmegen est causé par une mutation affectant le gène *NBS1*, se trouvant sur le chromosome 8. Des cellules de patients NBS ont une sensibilité accrue à des traitements par des agents clastogènes et présentent une grande instabilité génomique (Digweed et Sperling 2004; Kraakman-van der Zwet et al. 1999; Taalman et al. 1983). La protéine *NBS1* fait partie du complexe MRN, responsable du recrutement et de l'activation d'ATM au site de CDB (J.-H. Lee et al. 2013; Paull 2015). Ces fonctions expliquent une certaine similarité de phénotypes entre les patients NBS et les patients atteints d'Ataxie Téléangiectasie (AT) abordée plus loin. Les différences de phénotypes en revanche peuvent être expliquées par une activité résiduelle d'ATM, qui ne requiert pas toujours la présence du complexe MRN, ou la compensation de ce dernier par ATR. Il est important de préciser que le déficit immunitaire des patients NBS est plus prononcé que celui de l'Ataxie Téléangiectasie (AT), d'un défaut de *MRE11* (Ataxia Telangiectasia Like Disorder ou ATLD) ou d'un défaut de *RAD50* (Fernet et al. 2005; Alsbeih, Al-Hadyan, et Al-Harbi 2008; Waltes et al. 2009). Enfin, comme mentionné plus haut, les patients NBS présentent une microcéphalie prononcée, ce qui n'est pas le cas des patients atteints d'AT. Un défaut d'ATM est donc encore une fois moins sévère car celui-ci pourra en partie être compensé par ATR.

Il est intéressant de préciser qu'une microcéphalie ne peut être considérée comme un symptôme spécifique d'une déficience de la voie RH. Ces anomalies du développement sont plutôt associées à des défauts affectant la réplication (ATR, *RAD50*, *MRE11* ou *NBS1* par exemple) ou des défauts affectant la cytokinèse (ref). En effet, une mutation d'ATR, acteur de la voie RH, mène à un syndrome de Seckel caractérisé par une petite carrure, une déformation du squelette avec dysmorphie faciale (visage en bec d'oiseau) ainsi qu'une microcéphalie (O'Driscoll et al. 2003). De façon similaire, une mutation du gène codant CtIP entraîne un syndrome de Seckel ou un syndrome de Jawad, caractérisé par une microcéphalie et une déformation du squelette (une forme moins sévère du syndrome de Seckel) (Qvist et al. 2011).

Toujours en progressant dans la voie RH, l'invasion de l'extension simple-brin se fait grâce au complexe BRCA1-PALB2, en facilitant le recrutement de RAD51. Des mutations de RAD51 ont été décrites comme entraînant des retards de croissance, une microcéphalie et déformation du squelette (Ameziane et al. 2015) mais également un désordre neurologique appelé « mouvements miroirs congénitaux » (Depienne et al. 2012). Une forte prédisposition au cancer (notamment du sein et ovarien) a été associée à des mutations hétérozygotes des gènes BRCA1 et BRCA2. Et une mutation homozygote de BRCA2 peut être associée à l'Anémie de Fanconi (FA) (Howlett 2002).

c) Cas particuliers

Cette hétérogénéité phénotypique, observable après déficience de facteurs issus d'une même voie de réparation, démontre toute la complexité des voies de réparation de l'ADN. Cette complexité se prolonge également avec la déficience de facteurs à la croisée de plusieurs voies de réparation, comme c'est le cas pour le facteur ATM ou les hélicases WRN et BLM.

i) Ataxie Téléangiectasie (AT) :

L'Ataxie Téléangiectasie (AT) se caractérise par une neurodégénération progressive (principalement du cervelet), une prédisposition aux cancers hématologiques et une immunodéficiência (Biton, Barzilai, et Shiloh 2008). L'ataxie téléangiectasie (AT) est héritée d'une manière autosomique récessive et sa fréquence est estimée à une naissance sur quarante mille (Stoppa-Lyonnet & Aurias, 1992). Le premier cas d'AT a été décrit par Denis Louis-Bar en 1941. Le terme « ataxie téléangiectasie », en revanche, n'a été introduit qu'en 1958 par Boder & Sedgwick.

Comme indiqué par son nom, les deux symptômes les plus apparents de cette pathologie sont l'ataxie (un trouble de la coordination des mouvements d'origine neurologique) et la téléangiectasie (une dilatation anormale des vaisseaux sanguins, principalement dans la région oculaire). Les autres symptômes accompagnant cette pathologie sont une atrophie des gonades, une immunodéficiência et une hypersensibilité aux radiations ionisantes (RI). Les premiers symptômes apparaissent durant l'enfance, avec des problèmes moteurs (ataxie) affectant la marche ou la capacité de se tenir debout, la plupart des patients AT étant forcés d'utiliser une chaise roulante avant l'âge de dix ans. D'autres symptômes plus tardifs, comme un vieillissement prématuré, des changements cutanés et une perte de cheveux, peuvent être associés à l'AT (Chun et

Gatti 2004). Cette maladie s'accompagnant d'une forte prédisposition aux leucémies ou aux infections résultant de l'immunodéficiences compromet la durée de vie moyenne des patients (Cimprich et Cortez 2008). Enfin, des patients porteurs hétérozygotes d'une mutation du gène *ATM* ont une prédisposition forte à développer un cancer du sein (Swift et Lukin 2008).

Le gène responsable de cette pathologie est le gène *ATM* (ataxia-telangiectasia-mutated), localisé sur le chromosome 11. La protéine ATM est une sérine thréonine kinase jouant un rôle important dans la signalisation de la DDR, et spécialement des CDB, ainsi que dans la régulation du cycle cellulaire (avec les checkpoints des phases G1 et S) (Smith et al. 2010; Guleria et Chandna 2016). Cette dernière possède également un rôle dans l'apoptose ou mort cellulaire programmée (Tichý et al. 2010).

ATM est activé via le complexe MRN (MRE11/RAD50/NBS1) qui est un détecteur des CDB (T. Uziel 2003). Ce complexe déclenche l'autophosphorylation d'ATM (Bakkenist et Kastan 2003). Un modèle murin d'une déficience en ATM démontre de nombreuses similarités avec les symptômes humains : augmentation de l'instabilité génomique (apparition de cassures chromosomiques), immunodéficiences associées aux lymphocytes T et stérilité due à une déficience de la spermatogénèse (Elson et al. 1996).

L'importance d'ATM pour la maintenance de la stabilité génomique et la régulation du cycle cellulaire explique les symptômes associés de dégénérescence neurologique ou de prédisposition au cancer. Il est intéressant d'observer que, malgré l'importance de ce facteur dans la signalisation des CDB, une absence de ce dernier ne mène pas à une léthalité embryonnaire.

ii) Le syndrome de Werner (SW) :

Le syndrome de Werner (SW) est une maladie autosomique récessive affectant une personne sur un million. Il fut décrit pour la première fois par Otto Werner en 1904. Les patients atteints de ce syndrome montrent des signes de vieillissement prématuré. Ces symptômes de vieillissement apparaissent généralement après la puberté. Les plus caractéristiques sont une ulcération de la peau, une perte de tissu adipeux sous-cutané, une perte et un grisonnement des cheveux, une ostéoporose, une athérosclérose, un diabète ou une cataracte et ces derniers peuvent être accompagnés d'un risque élevé de cancer (principalement sarcomes, carcinomes et cancers hématologiques) (Shibuya et al. 2005; Thweatt et Goldstein 1993).

Le SW est causé par une mutation du gène *WRN* situé sur le chromosome 8, et de rares cas ont été liés à une protéine appelée progérine, liée à la progéria d'Hutchinson-Guilford et issu d'un

splice alternatif du gène *LMNA* (voir chapitre 5) (Eriksson et al. 2003). La protéine WRN est une hélicase d'ADN. Cette dernière joue un rôle dans différentes voies de réparation, en se liant aux fourches de réplication ou jonctions de Holliday (Compton et al. 2008; Killoran et Keck 2006). Une implication de cette dernière, en coopération avec DNA-PKcs a également été montré dans la maintenance de la « D-loop » télomérique (voir chapitre 5) (Kusumoto-Matsuo et al. 2010).

Une déficience de la protéine WRN engendre donc un défaut de réparation de l'ADN, et notamment des CDB, et probablement de régulation des télomères pouvant expliquer respectivement la prédisposition au cancer ainsi que le phénotype de vieillissement accéléré.

iii) Le syndrome de Bloom (SB) :

Le syndrome de Bloom (SB) est une maladie autosomique récessive extrêmement rare avec environ 220 cas décrits dans le monde depuis 1975, (L. Wu et Hickson 2003). Ce syndrome, initialement décrit par le docteur dermatologiste David Bloom, fut découvert en 1954.

Les symptômes principaux de cette maladie sont une photosensibilité accrue, des taches cutanées dites « café-au-lait », une petite taille et un visage étroit, une infertilité masculine associée à un hypogonadisme, une immunodéficiences, des problèmes pulmonaires chroniques et une prédisposition aux cancers (leucémies, lymphomes non-hodgkiniens et cancers de la peau) (Arora et al. 2014). L'âge moyen de diagnostique pour ce syndrome est de 24 ans.

Le SB est causé par une mutation du gène *BLM*. La protéine BLM est une hélicase d'ADN de la même famille que WRN. Elle est impliquée dans les processus de synthèse translésionnelle et de correction de mutation lors de la réplication (Hanada et Hickson 2007). BLM peut interagir avec le complexe MRN et être phosphorylée via ATM et ATR après détection de dommages à l'ADN. Egalement, lors d'expériences de microirradiation laser, BLM est décrit comme étant rapidement recruté au site de CDB sous la forme de foci (Samanta et Karmakar 2012).

Chapitre 3 : [Importance de la chromatine dans la stabilité du génome]

Le but de tout organisme est de protéger l'intégrité de son code génétique. Pour cela, les cellules possèdent différentes voies de réparation de l'ADN (exposées dans le chapitre 1) permettant de faire face aux multiples modifications et lésions que le génome peut subir chaque jour. Or, il est important de considérer que la dynamique du génome ne se limite pas à un enchaînement d'acteurs de la réparation mais implique également des niveaux plus complexes de régulation. Les modifications de la chromatine jouent ainsi un rôle important dans la régulation de la DDR.

1) La chromatine : structure et implication dans la DDR

Le mot chromatine a été proposé par Walther Flemming afin de décrire la structure unique observable au sein du noyau d'une cellule après coloration (van Holde et Zlatanova 2007). La chromatine représente un assemblage complexe d'ADN, d'histones et d'autres protéines permettant l'organisation nucléaire du génome.

Le nucléosome est l'unité fonctionnelle de base de la chromatine. Il est constitué de 147 paires de bases (bp) d'ADN enroulées autour d'un octamère d'histones (Campos et Reinberg 2009). Chaque nucléosome forme une structure d'environ 10nm. Ces derniers se succèdent tout au long du double brin d'ADN, formant une structure en collier de perle. Cet enchaînement de « perles » (nucléosomes) peut se compacter afin de former des structures d'ordre supérieur. L'octamère d'histone qui forme le nucléosome est composé (sauf cas particulier) de deux hétérodimères d'histones H3-H4, et de deux hétérodimères d'histones H2A-H2B. L'extrémité N-terminale de ces histones forme une extension, telle une queue, à l'extérieur de ce complexe. Ces extensions accessibles contiennent des résidus lysine (K) qui peuvent subir des modifications post-traductionnelles telles que l'acétylation (ac), la méthylation (me) ou l'ubiquitination (ub)/ SUMOylation (SUMO) (Rothbart et Strahl 2014).

Chromosome eucaryote

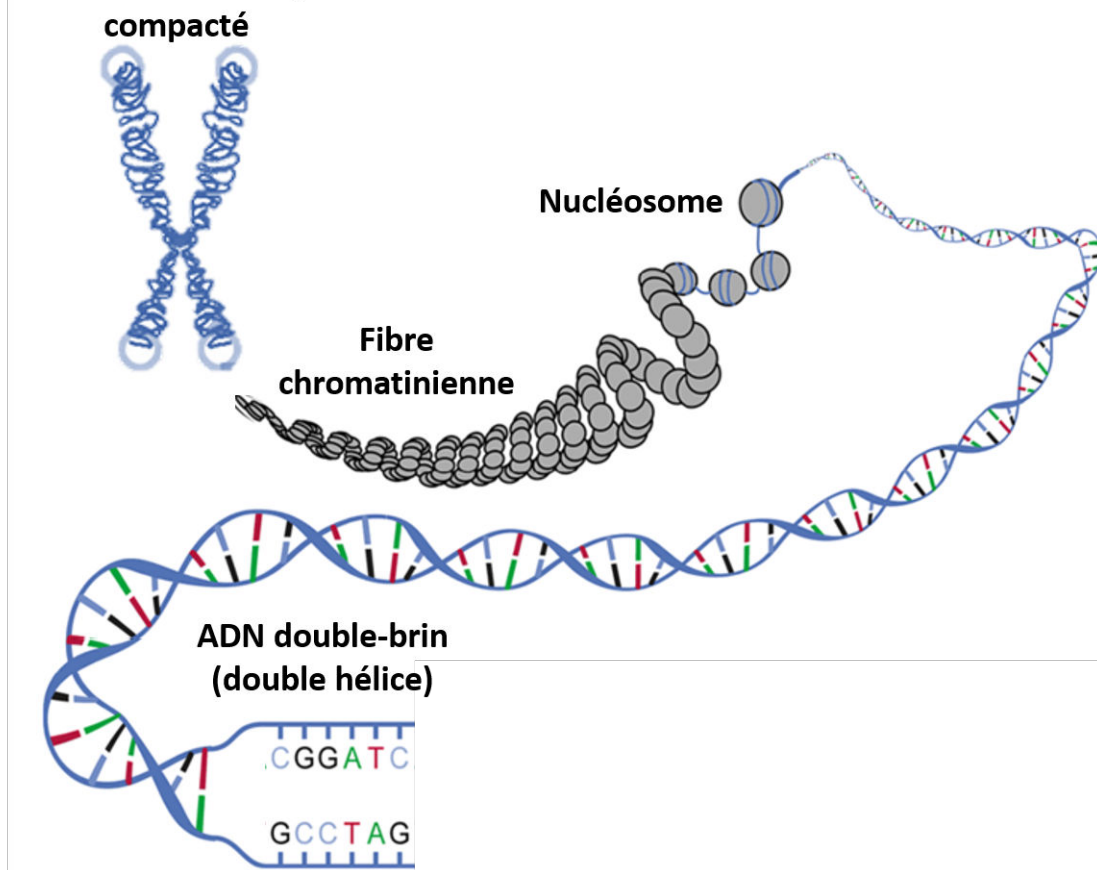


Schéma 9 : Illustration de la structure chromatinienne

Les nucléosomes sont reliés entre eux par l'histone H1, qui sert d'ancrage entre les octamères, et par un filament d'ADN. Ces interactions créent des groupements plus importants en taille et aboutissent à la formation d'une fibre de chromatine (Ricci et al. 2015; Maeshima et al. 2014). Le nombre de nucléosomes dans un domaine chromatinien détermine la densité de la fibre de chromatine et permet la formation de structures chromatinienne « secondaires » et « tertiaires » d'ordre supérieure. Une structure chromatinienne secondaire se définit comme une interaction entre plusieurs nucléosomes, à la différence des structures tertiaires qui sont formées par l'interaction de structures chromatinienne secondaires et forment des domaines beaucoup plus grands. Ces domaines chromatiens font appel à différentes protéines comme l'histone H1 déjà citée, mais aussi HP1 (Heterochromatin Protein 1), LSD1 (Lysine Specific Demethylase 1), des protéines issues des complexes Polycomb (PRC1) et bien d'autres (Meier et Brehm 2014).

La chromatine se présente sous deux formes principales que sont l'hétérochromatine et l'euchromatine. L'hétérochromatine représente un état compacté de cette dernière, et peut se diviser en deux catégories : l'hétérochromatine constitutive représentant des domaines de l'ADN riches en régions répétées, pauvres en origines de réplication et en gènes qui se retrouve invariablement sous forme compactée ; et l'hétérochromatine facultative, qui peut passer d'un état compacté à un état plus relâché. Ce dernier, plus propice à la transcription, définit la chromatine « relâchée » ou euchromatine. La distinction des différents états de la chromatine peut se faire via la présence ou absence de MPTs d'histones. Ces modifications agissent comme un balisage et permettent l'interaction des histones avec de multiples protéines, complexes protéiques ou d'autres histones. Par exemple, la tri-méthylation de la lysine 9 de l'histone H3 (H3K9me3) et la tri-méthylation de l'histone H4 sur la lysine 20 (H4K20me3) sont des marqueurs fort de l'hétérochromatine. Ces marqueurs se retrouvent de façon importante dans les zones péri-centromériques constituées d'hétérochromatine constitutive. A l'inverse, la présence d'histone H3 acétylée sur la lysine 9 (H3K9ac) ou d'une acétylation des lysines en N-terminale de l'histone H4 sont caractéristiques d'un état relâché de la chromatine. Cet état se retrouve majoritairement au niveau de régions transcriptionnellement actives. L'ouverture de la chromatine, dans ce cas par exemple, s'explique par la perte d'interaction (due à l'acétylation) de la queue de l'histone H4 avec le dimère H2A/H2B du nucléosome adjacent (Ruan et al. 2015).

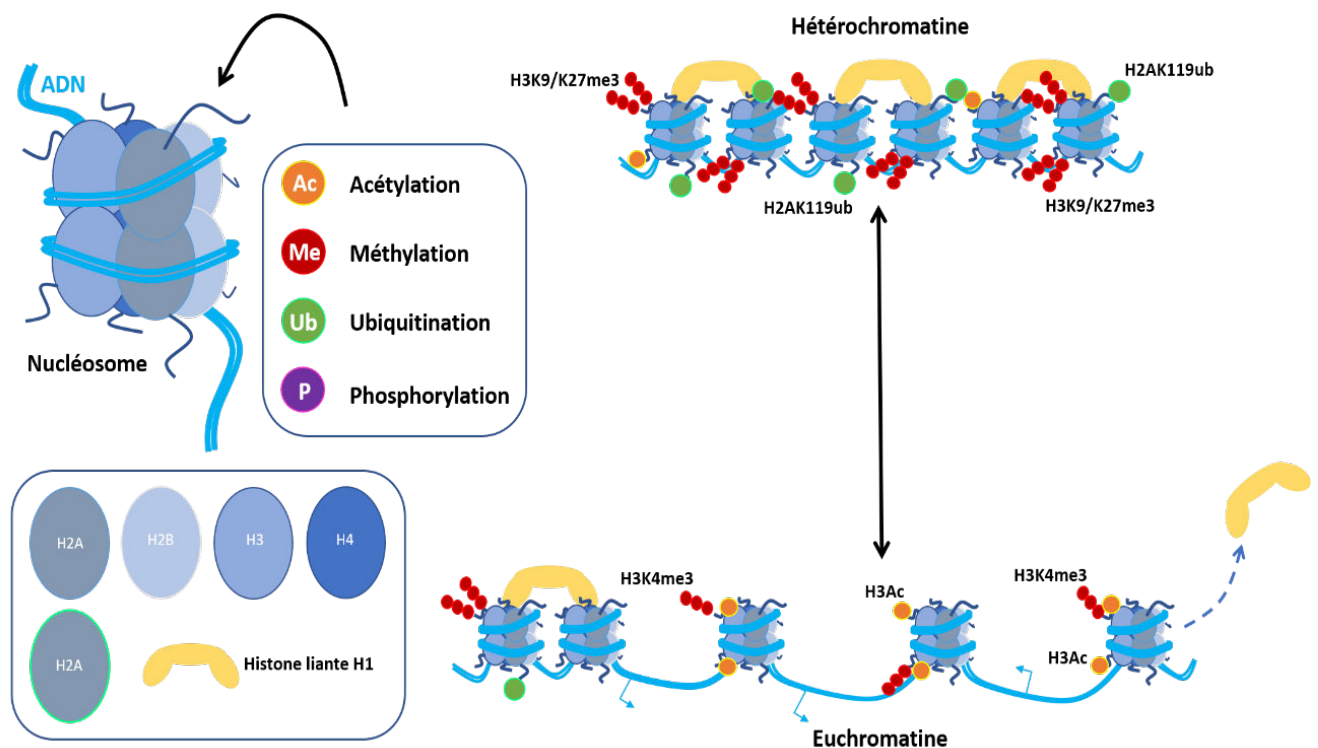


Schéma 10 : Illustration de la différence entre euchromatine et hétérochromatine.

La chromatine étant le support physique de la machinerie de réparation de l'ADN, son environnement et sa structure possède une influence sur le maintien de l'intégrité génomique (Luijsterburg et van Attikum 2011; Soria, Polo, et Almouzni 2012). De façon intéressante, le séquençage de cellules issues de multiples cancers a permis d'observer une répartition hétérogène de mutations tout au long du génome, via une fréquence de mutations plus importante dans des zones d'hétérochromatine ou pauvres en origine de réplication. En effet, un nombre élevé de mutations somatiques (principalement issues de substitutions de bases) dans le génome de ces cancers se superposent à des régions enrichies en marqueurs hétérochromatiniens tels que H3K9me3/2 ou H4K20me3 (Schuster-Böckler et Lehner 2012; Zheng et al. 2014; Supek et Lehner 2015).

Ces observations ouvrent la voie à plusieurs hypothèses sur le rôle de la « plasticité » de la chromatine dans la réponse aux dommages de l'ADN (DDR). Cette dynamique de la structure chromatinienne est issue de processus de remodelage faisant appel à différents complexes ATP-dépendants ou à l'ajout/retrait de variants d'histones et de MPT sur ces dernières. Ces processus feront l'objet des parties suivantes avec une attention particulière portée sur les complexes de remodelage ou les modifications de l'histone H2A impliqués dans la DDR.

2) Remodeleurs chromatiniens et CDB

Après apparition d'une CDB, la chromatine proche des extrémités subit des modifications comme la phosphorylation d'H2A.X médiée par ATM (et ATR). Cette modification permet le recrutement de facteurs médiateurs de la réparation comme MDC1 ou 53BP1 par exemple (Ciccia et Elledge 2010; Kinner et al. 2008).

La structure de la chromatine, comme introduit précédemment, joue un rôle important dans la réparation et signalisation des CDB. La compaction de la chromatine influence l'efficacité de la DDR et peut nécessiter une dégradation des histones ou une déstabilisation du nucléosome (Hauer et Gasser 2017). Cette déstabilisation peut s'étendre jusqu'à 3 kilobases autour de la lésion, et est requise pour une réparation optimale de cette dernière (J. Kim et al. 2007; Ye Xu et Price 2011; Ye Xu et al. 2010). Il a été montré qu'une CDB localisée dans une région d'hétérochromatine est réparée plus lentement que dans une région d'euchromatine, et nécessite plus d'étapes comme la phosphorylation de la protéine KAP1 par exemple (Goodarzi et al. 2008a; Goodarzi, Kurka, et Jeggo

2011). Ces étapes sont nécessaires afin de permettre une expansion ATP-dépendante de la chromatine (Kruhlak et al. 2006) et sa relaxation au niveau de la cassure (Goodarzi et al. 2008a).

En phase G1 du cycle cellulaire, la Nucleolin, une chaperonne d'histones, est recrutée directement aux sites de cassures via son interaction avec RAD50 (du complexe MRN) afin de retirer un dimère H2A/H2B et entraîner la déstabilisation du nucléosome. En parallèle de cette déstabilisation partielle, une déstabilisation complète peut être observée durant la phase S/G2 lors de l'étape de résection réalisée par l'endonucléase CtIP associée à la voie RH (Goldstein et al. 2013). Ces observations démontrent l'importance du remodelage chromatinien nécessaire pour une réparation efficace des CDB.

a) Généralités

Il existe un grand nombre de complexes ATP-dépendants remodeleurs de la chromatine. Ces derniers jouent un rôle important dans la régulation de la transcription et plus précisément dans l'accessibilité des facteurs de transcription à l'ADN (Bell et al. 2011). Leur implication dans les mécanismes de réparation de l'ADN apparaît de plus en plus importante. Plusieurs travaux ont mis en avant l'importance des remodeleurs chromatinien dans la DDR, en montrant une hypersensibilité cellulaire à des événements clastogènes après déplétion de certaines sous-unités de ces complexes (Chambers et Downs 2012; Jeggo et Downs 2014). Ce phénotype hypersensible aux CDB peut provenir d'une dérégulation transcriptionnelle, d'un défaut de réplication ou d'une atteinte directe des voies de réparation. Afin de comprendre si différents complexes agissent de manière directe ou indirecte sur les voies de réparation des CDB, il est important d'étudier leur impact sur le recrutement de facteurs de la réparation ainsi que leur propre diffusion au sein du noyau via des techniques de microscopie à fluorescence. L'étude de leur impact sur la composition et l'état de la chromatine au site de cassure est également à considérer via des techniques d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) par exemple (Seeber, Hauer, et Gasser 2013).

Ces complexes sont capables via une hydrolyse de l'ATP de modifier les contacts entre histones et peuvent déplacer par glissement, altérer sa composition ou retirer un nucléosome (Hargreaves et Crabtree 2011; Clapier et Cairns 2009; Flaus et Owen-Hughes 2004). Ces complexes peuvent être regroupés en quatre familles distinctes : SWI/SNF (Switch/sucrose non-fermenting), INO80 (Inositol requiring 80), CHD (Chromodomain-helicase-DNA binding) et ISWI (Initiation

Switch). Chaque famille est caractérisée par la nature des domaines SWI2/SNF2 portés par les sous-unités ATPases de ces complexes. Ces différents complexes ATP-dépendants possèdent de nombreuses fonctions liées au métabolisme cellulaire. Parfois redondantes, ces fonctions se retrouvent dans la régulation de la croissance, du développement ou de la différenciation cellulaire. Ces complexes peuvent donc être impliqués dans des étapes du développement embryonnaire ou de la tumorigénèse (Hargreaves et Crabtree 2011; Clapier et Cairns 2009).

b) Complexe SWI/SNF et DDR

Chez les mammifères, le complexe SWI/SNF permet de réguler l'efficacité de la DDR et est recruté au niveau des CDB (Chai 2005). Chez l'Homme, celui-ci contient une sous-unité catalytique BRG ou BRM et se présente sous forme BAF ou pBAF (pour BRG1/BRM associated factors) suivant la sous-unité impliquée (Clapier et Cairns 2009). En effet, une déstabilisation des sous-unités catalytiques BRG1 ou BRM (portant l'activité ATPase du complexe) mène à une hypersensibilité cellulaire à des agents clastogènes, inhibe la phosphorylation de H2A.X à la suite d'une lésion et diminue ainsi l'efficacité de réparation (Park et al. 2009; Smith-Roe et al. 2015). Chacune de ces sous-unités est recrutée au niveau de la chromatine endommagée et interagit avec l'histone H3 et H4 du nucléosome à proximité de la lésion. GCN5, une histone acétyltransférase (HAT), se lie à pH2A.X après formation d'une CDB, entraînant l'acétylation des histones H3 à proximité. Cette acétylation est reconnue par BRG1 et permet le recrutement du domaine SWI/SNF (Qi et al. 2015, 1). D'autres HAT telles que TIP60, p300 ou CBP permettent également un recrutement du complexe SWI/SNF au niveau des CDB (Ogiwara et al. 2011).

Le recrutement au site de cassure du complexe SWI/SNF dépend de son interaction avec un effecteur précoce de la DDR nommé BRIT1. Cette interaction est dépendante de la phosphorylation par ATM de la sous-unité BAF170 du complexe SWI/SNF. De façon intéressante, une déplétion de BRIT1 a révélé un défaut de relaxation de la chromatine coïncidant avec une déficience des voies NHEJ et RH (Peng et al. 2009).

Enfin, des travaux, utilisant le système I-Sce pour générer des cassures de l'ADN, ont démontré l'importance des sous-unité PBAF pour la réparation de cassures proches de régions transcriptionnellement actives (Kakaroukas et al. 2014). A l'inverse, les sous-unité BAF (comme BRM), nécessaires au recrutement de Ku70/80 (Ogiwara et al. 2011; Watanabe et al. 2017) ne semblent pas

impliquées. Ces deux formes du complexe SWI/SNF pourraient donc coexister et posséder des rôles non-redondants au niveau des CDB.

c) Complexe CHD et DDR

Les complexes CHD ou NuRD possèdent des sous-unités catalytiques leur permettant de se lier aux histones méthylées et sont décrits dans différents mécanismes comme la régulation de la transcription ou l'échange dynamique d'histones au sein du nucléosomes (Clapier et Cairns 2009). De façon intéressante, une déplétion des sous-unité CHD4 ou MTA2 de ces complexes par shARN a révélé une activation de la voie p53 et une augmentation de dommages spontanés à l'ADN. Ces sous-unités sont recrutées de façon PARP-dépendante au niveau de CDB après RI, et CHD4 a démontré une capacité à promouvoir l'ubiquitination d'histones favorisant le recrutement de RNF168 ou d'autres facteurs tel que BRCA1 (Chou et al. 2010; Sophie E Polo et al. 2010).

En comparaison, le complexe CHD3 est exclu des sites de cassures dans les zones d'hétérochromatine riches en KAP1. Ce retrait est dépendant de l'activité d'ATM. En effet, la phosphorylation via ATM de KAP1 en pKAP1 déstabilise son interaction avec CHD3, entraînant le décrochage de cette dernière. L'apparition de pKAP1 est alors suivie d'une relaxation de la chromatine afin de faciliter l'accès des protéines de la réparation (Goodarzi et al. 2008b; Goodarzi, Kurka, et Jeggo 2011). Ainsi de manière paradoxale, CHD3 est retiré de zones transcriptionnellement éteintes afin de relâcher la chromatine et favoriser la réparation ; à l'inverse de NuRD, qui est recruté dans des zones transcriptionnellement actives et semble éteindre cette transcription durant la phase de réparation.

d) Autres exemples de complexes remodeleurs impliqués dans la DDR

L'activité du complexe TRRAP/TIP60 via sa sous-unité ATPase p400 permet une intégration d'H2A.Z au sein du nucléosome de manière dépendante du signal pH2A.X (Ye Xu et al. 2010, 60). Cet échange d'H2A en H2A.Z est requis pour l'acétylation de l'histone H4 par TIP60 et l'activité de RNF8. L'incorporation d'H2A.Z favorise aussi le recrutement de l'hétérodimère Ku70/80. En effet, le recrutement de ce dernier est diminué au profit de RPA, au sein de cellules H2A.Z déficientes. Ce défaut peut être corrigé par déplétion de CtIP. L'incorporation d'H2A.Z au sein du génome via TIP60 génère donc une barrière contre la résection et favorise ainsi une réparation via la voie NHEJ (Ye Xu et al. 2012).

Un rôle intéressant, et paradoxal, de TIP60 nouvellement décrit est sa capacité de lier H4K20me2. Cette interaction, avec l'acétylation de l'histone H4, semble déstabiliser l'association de 53BP1 au nucléosome et donc promouvoir une réparation par la voie RH (Tang et al. 2013). En effet, TIP60 semble entrer en compétition au niveau d'H4K20me2 et est capable d'acétyler H2AK15, bloquant sa mono-ubiquitination et empêchant le recrutement de 53BP1 (Jacquet et al. 2016).

3) Histone H2A/H2A.X, ubiquitination et DDR

Les modifications d'histones jouent un rôle important dans la réparation des CDB. En réponse aux dommages de l'ADN, différentes MPT (méthylation, acétylation, ubiquitination) permettent la signalisation de cascades enzymatiques et le recrutement de facteurs de la réparation (Dantuma et van Attikum 2016). Cet enchaînement complexe de signalisation via les MPT d'histones est organisé autour de modules fonctionnels permettant de « rédiger », « lire » et « effacer » ce marquage chromatinien. La dynamique de ces marquages est telle qu'un effecteur pourra se fixer via à une méthylation et débubiquitiner l'histone d'ancrage et ou les histones adjacentes. La multiplicité d'action de ces enzymes définit ainsi un système de signalisation extrêmement complexe et nuancé.

L'ubiquitination consiste en un attachement covalent d'un résidu ubiquitine de 76 acides aminés à sa cible. Cette modification peut prendre la forme d'un résidu unique (mono-ubiquitination) ou se présenter sous la forme d'une chaîne (poly-ubiquitination). La fixation de l'ubiquitine est réalisée par différentes enzymes appelées ubiquitine ligases. Ces enzymes sont classées en trois catégories : E1, E2 et E3 (...). A l'inverse, l'action de débubiquitination est catalysée par des enzymes appelées débubiquitinases ou DUB.

L'ubiquitination de l'histone H2A est une MPT importante de la DDR (S. P. Jackson et Durocher 2013). Trois enzymes (RNF168, le complexe PRC1 et BRCA1) modifient l'histone H2A en trois endroits distincts (respectivement K13/K15, K119 et K127/129). Chacune de ces enzymes, à l'exception de RNF168, agit sous forme de complexe multiprotéique pouvant s'intégrer dans cette complexité d'effecteurs mentionnés plus tôt. Par exemple, le complexe PRC1 peut prendre différentes formes en fonction de ses sous-unités ; et ces différentes formes ont démontré différentes fonctions au sein de la DDR (Z. Gao et al. 2012).

a) H2A et RNF8/RNF168

La ligase E3 RNF168 catalyse deux réactions d'ubiquitination différentes. La première est la mono-ubiquitination de l'histone H2A sur K15, et l'autre est la poly-ubiquitination de cette dernière sur K63. Ces deux réactions sont dépendantes de RNF8, qui est recruté au site de dommages avant RNF168 via l'action d'ATM. Le recrutement de RNF8 au site de cassure se fait via son domaine FHA qui reconnaît le site catalytique de MDC1 (Kolas et al. 2007). RNF8 ne permet pas une ubiquitination directe d'H2A mais peut former une extension polyubiquitine sur K63 après monoubiquitination de celle-ci par RNF168 (Mattioli et al. 2012). Le recrutement de RNF168 se fait via l'ubiquitination d'H1K63 par RNF8 (Fradet-Turcotte et al. 2013). RNF168 peut ensuite se lier à son propre produit d'ubiquitination, augmentant ainsi sa concentration au site de cassure et l'amplification du signal d'H2A monoubiquitinée (Doil et al. 2009). Afin d'éviter un emballement du signal et recrutement de RNF168, sa concentration est maintenue à un niveau physiologique grâce à une dégradation protéosomale médiée par les E3 ligases TRIP12 et UBR5 (Gudjonsson et al. 2012).

Comme mentionné précédemment, RNF8 peut poly-ubiquitiner H2AK63mono-ub, permettant, par exemple, le recrutement du complexe BRCA1-A (Sobhian et al. 2007). Ce complexe, formé par RAP80, comprend plusieurs sous-unités comme Abraxas, MERIT40, BRCC36, BRCC45 et bien sûr BRCA1. RAP80 est responsable du recrutement de ce complexe via une interaction entre son domaine UIM (ubiquitin interacting motif) et la chaîne poly-ubiquitine de K63. Ce complexe semble limiter la résection des extrémités de la cassure, favorisant ainsi la voie NHEJ (Hu et al. 2011; K. I. Savage et Harkin 2015).

La monoubiquitination d'H2A K13/15 par RNF168 permettrait un choix au niveau des voies de réparation des CDB, via le recrutement de 53BP1 au site de dommages. En effet, 53BP1 se lie de façon spécifique à H2AK15mono-ub et non à H2AK13mono-ub (Fradet-Turcotte et al. 2013). En effet, bien que présente *in vivo*, H2AK13 exerce une fonction encore mal comprise (M. D. Wilson et al. 2016). Plus spécifiquement, la fixation de 53BP1 se fait via l'interaction de son domaine TUDOR avec H4K20me2 (Botuyan et al. 2006) et son domaine UDR (ubiquitin dependent recruitment) en C-terminal avec H2AK15mono-ub (Fradet-Turcotte et al. 2013). La présence de ces deux domaines est nécessaire au recrutement de 53BP1 sous forme d'IRIF (foyer de réparation après radiations ionisantes).

Enfin, l'activité de RNF168 étant spécifique d'H2A, elle peut être opposée de façon tout aussi spécifique via l'action de déubiquitinases d'histones (DUB) telles qu'USP3, USP11, USP44 ou USP51.

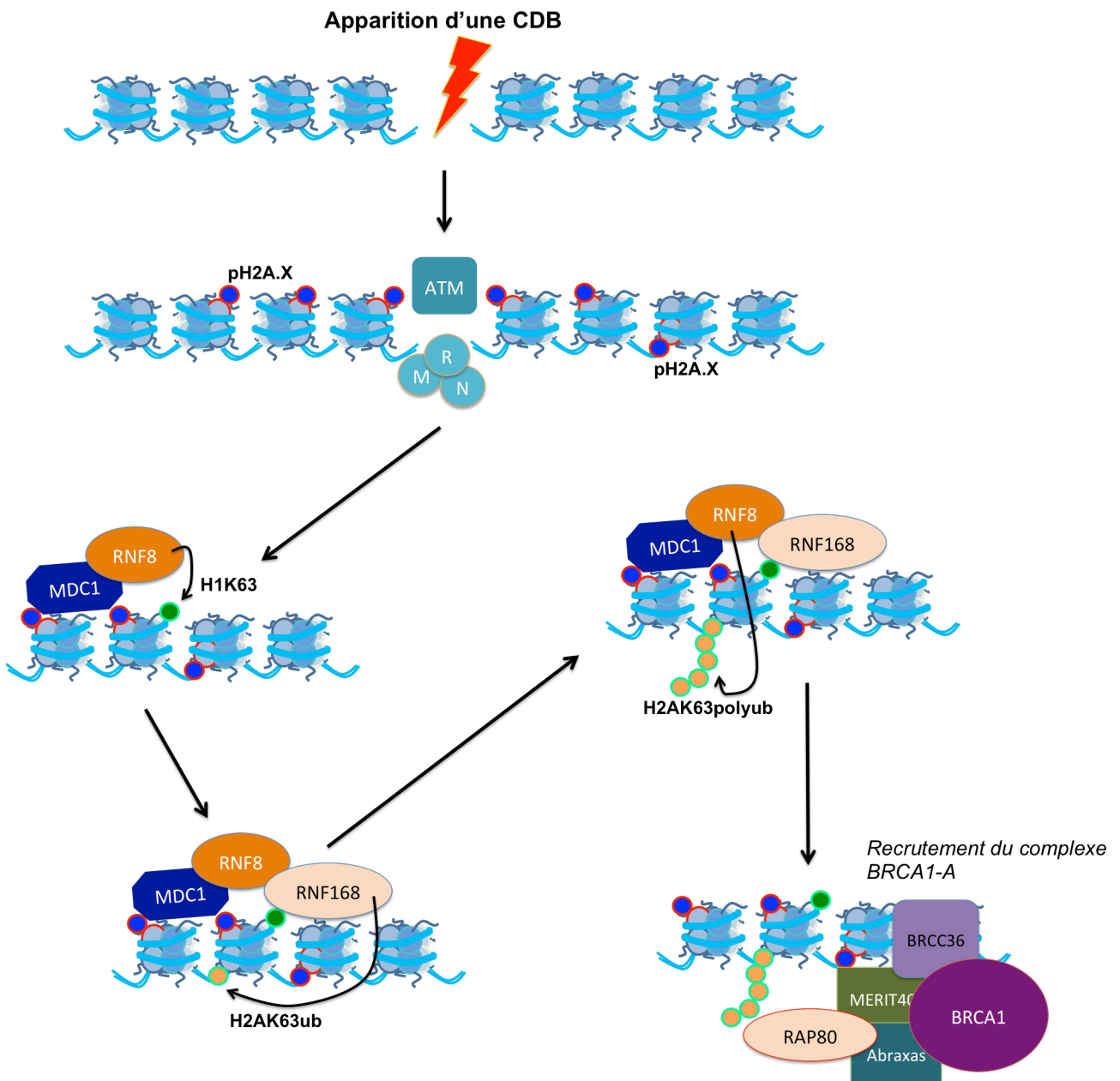


Schéma 11 : Illustration du rôle de RNF8/RNF168 au niveau de l'histone H2A au cours de la DDR.

b) H2A et BRCA1

BRCA1 forme un hétérodimère avec BARD1 via son domaine RING (Wu et al, 1996). Cet hétérodimère possède alors une activité ligase E3 ayant comme cible H2AK127/129 (Kalb et al. 2014). L'ubiquitination d'H2AK127/129 est BARD1 dépendante (Densham et al. 2016). L'hétérodimère BRCA1/BARD1 semble alors promouvoir la réparation des cassures via RH, en facilitant l'étape de résection et le recrutement de RAD51 (Huen, Sy, et Chen 2010).

De manière plus détaillée, BRCA1 peut être retrouvé sur une distance allant jusqu'à 10 kilobases autour de la cassure. Cette spécificité s'explique par la présence du complexe BRCA1-A (mentionné précédemment) autour du site de cassure. La formation de ce complexe est dirigée par RAP80 et sa fixation à la chromatine se fait via les chaînes poly-ubiquitinées d'H2AK63 (Coleman et Greenberg 2011; Goldstein et Kastan 2015). La séquestration de BRCA1 au sein du complexe BRCA1-A semble antagoniser la phase de résection (Coleman et Greenberg 2011), alors que son recrutement au site de cassure via BARD1 favorise la voie RH grâce à son interaction (dépendante du complexe MRN) avec CtIP (K. I. Savage et Harkin 2015; W. Wu et al. 2015). Ce nouveau complexe BRCA1/CtIP/MRN est aussi nommé BRCA1-C. Il est important de considérer que la formation de ce nouveau complexe n'est pas dépendante de RNF8/RNF168 mais de l'activité d'ATM (W. Wu et al. 2015), et que l'histone H2A devient donc une plateforme essentielle dans la régulation de l'activité BRCA1.

Apparition d'une CDB

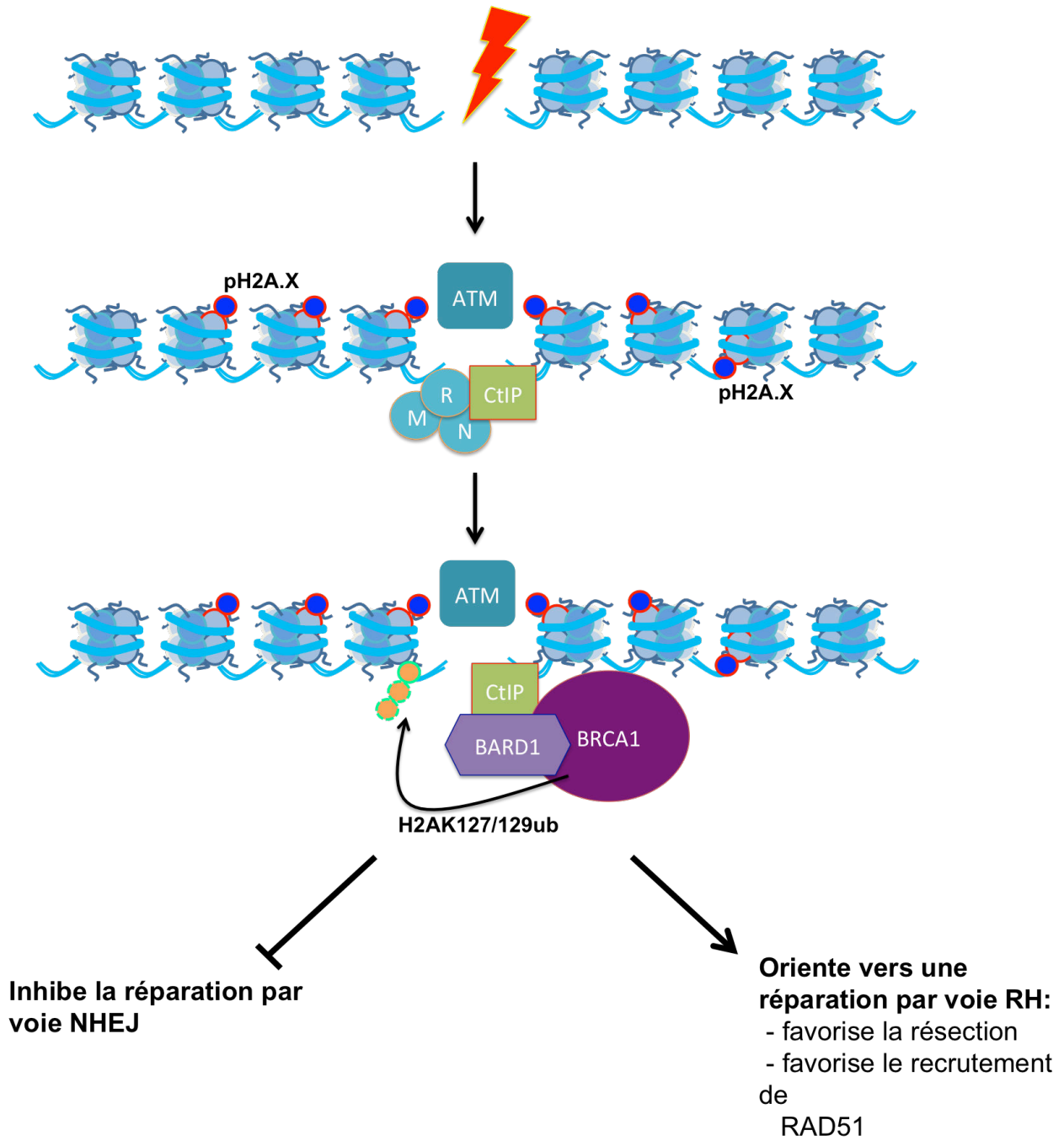


Schéma 12 : Illustration du rôle de BRCA1 au niveau de l'histone H2A au cours de la DDR.

c) H2A K119mono-ub et PRC1

La monoubiquitination de l'histone H2A sur la lysine119 (H2AK119ub) est une MPT abondante, comptant pour environ 10% du total d'histone H2A chromatinienne. Cette MPT est le premier exemple d'ubiquitination d'une protéine à avoir été décrit (Ericsson, Goldknopf, et Daneholt 1986). H2AK119ub est impliqué dans la régulation de nombreux processus touchant au génome dont la réparation de l'ADN (Kakarougkas, Downs, et Jeggo 2015a; Lin et al. 2015).

PRC1 (Polycomb Repressive Complex 1) est responsable de la monoubiquitination d'H2AK119, via ses sous-unités catalytiques RING1B accompagnée de BMI1 ou MEL18, formant le cœur du complexe (Hengbin Wang et al. 2004; Z. Li et al. 2006). PRC1 et PRC2 sont des régulateurs bien connus de la transcription. Ce sont deux complexes multiprotéiques composés de différentes sous-unités et possédant donc une activité distincte. PRC2 catalyse la triméthylation d'H3K27 (Schwartz et Pirrotta 2014).

De façon intéressante, l'inhibition de l'ARN polymérase I et II au niveau des CDB est dépendante à la fois de l'activation d'ATM et de la monoubiquitination d'H2AK119 (Shanbhag et al. 2010; Harding, Boiarsky, et Greenberg 2015), suggérant un rôle important d'H2AK119ub dans la répression de la transcription (Shanbhag et al. 2010). BMI1/RNF2 étant recrutées au niveau des CDB, H2AK119ub permettrait d'inhiber la transcription au niveau des CDB afin de faciliter leur réparation (Ginjala et al. 2011).

Apparition d'une CDB au niveau d'une région transcriptionnellement active

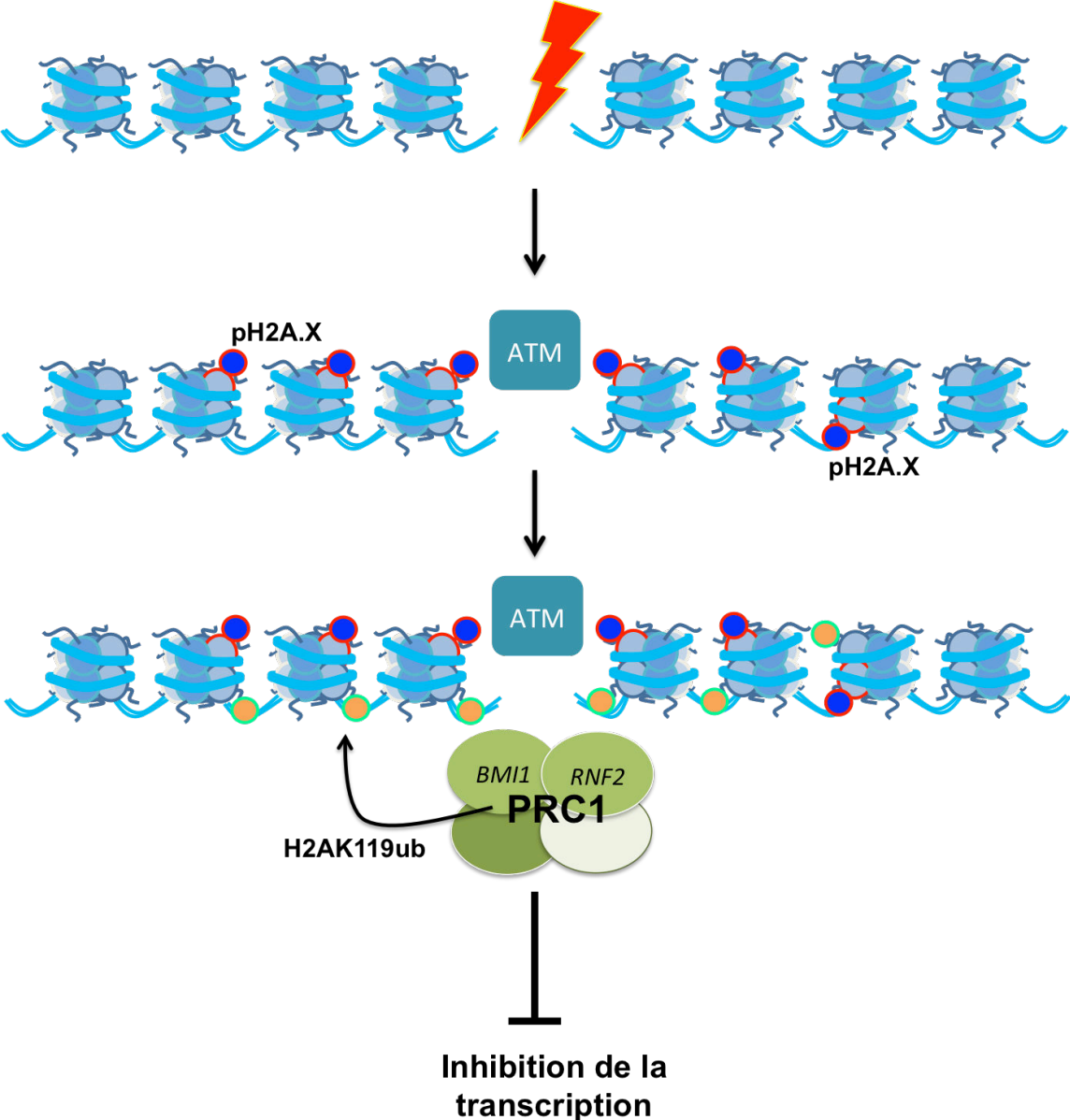


Schéma 13 : Illustration u rôle de PRC1 au niveau de l'histone H2A au cours de la DDR.

4) Implication des déubiquitinases (DUB) d'histone H2A/H2A.X

Étant donné l'importance de la mono- ou poly- ubiquitination d'H2A/H2A.X, la régulation de cette MPT par des déubiquitinases est un aspect important à considérer. Près d'une décennie plus tôt, l'étude de DUB telle que BRCC36, USP3 ou USP16 a montré l'importance de ces dernières dans la réparation de l'ADN (Nicassio et al. 2007a; Doil et al. 2009; Shanbhag et al. 2010). Depuis, plusieurs travaux, dont des screening réalisés par siARN, ont montré une connexion entre de multiples DUB et la DDR (Panier et Durocher 2009; S. P. Jackson et Durocher 2013; Nishi et al. 2014).

Le génome humain code approximativement 90 DUB divisées en cinq familles suivant leur domaine catalytique, leur structure ou leur fonction (Clague et al. 2013). Ces cinq familles sont :

- les protéases ubiquitine-spécifiques ou USP.
- les hydrolases d'ubiquitine en C-terminal ou UCH.
- les protéases à domaine OTUB ou OTU
- les protéases de la maladie Machado-Joseph ou MJD
- et les métalloprotéases à domaine JAMM.

Parmi ces DUBS, six USP (USP3, USP11, USP16, USP21, USP22 et USP44), une protéine UCH (BAP1) et deux métalloprotéases (MYSM1 et BRCC36) ont montré une activité envers l'histone H2A ubiquitinée (Belle et al. 2015), et certaines, comme introduit précédemment, possèdent un rôle dans la DDR.

a) USP3

USP3 déubiquitine H2AK13/15mono-ub en réponse à un événement clastogène et affecte donc le recrutement de 53BP1 (Doil et al. 2009; Sharma et al. 2014). Un modèle murin USP3 KO montre des niveaux élevés d'H2A et H2B monoubiquitinées, une diminution progressive du pool de cellules souches hématopoïétiques, un défaut de réparation des CDB ainsi qu'une prédisposition tumorale (Lancini et al. 2014a).

De manière générale, USP3 semble impliqué dans différents processus cellulaires allant d'une régulation de la phase S (Nicassio et al. 2007b), à la maintenance des cellules souches hématopoïétiques (CSH) (Lancini et al. 2014b). Concernant la DDR, USP3 apparait essentielle pour la réparation de lésions clastogènes mis en évidence par l'observation d'une hypersensibilité aux RI chez

la souris USP3 KO (Lancini et al. 2014b). Cependant, le mode d'action d'USP3 est encore incertain. USP3-GFP ne montre aucun recrutement au niveau de CDB. Son action pourrait donc se révéler indirecte, via la déubiquitination de substrats encore inconnus (Gudjonsson et al. 2012; S. P. Jackson et Durocher 2013). Enfin, une surexpression d'USP3 catalytiquement active a démontré une inhibition du recrutement de RNF8 et 53BP1 au niveau de foyers de réparation (IRIF) sans affecter le signal pH2A.X (Mosbech et al. 2013). USP3 pourrait donc limiter la signalisation de RNF168 en antagonisant son activité d'ubiquitination.

b) USP16

USP16 est responsable de la régulation de la voie RNF8/RNF168 (Joo et al. 2007) et serait impliquée dans la répression transcriptionnelle au niveau des CDB (Shanbhag et al. 2010).

c) USP44

Après screening de multiples DUBs, USP44 a montré une implication dans la DDR ainsi qu'un recrutement, via USP44-GFP au site de CDB (Nishi et al, 2014). De plus, une surexpression de cette dernière a démontré une importante réduction d'ubH2A au sein du génome (USP44 posséderait ainsi une activité envers H2AK119ub qui est la forme la plus abondante d'ubH2A), une réduction d'H2A mono-, di- et tri- ubiquitinée et également une diminution du recrutement de RNF168 au site de cassures (Mosbech et al. 2013). USP44 affecte également de façon négative le recrutement de 53BP1 (Nicassio et al. 2007a), suggérant une activité directe en H2A antagonisant l'action de RNF1/RNF68. Paradoxalement, son recrutement au niveau des CDB semble dépendant de l'activité de RNF8/RNF168 (Mosbech et al. 2013).

USP44 semble ainsi partager certaines fonctions avec USP3. Une régulation de leur activité respective en fonction du cycle cellulaire ou de l'état de la chromatine serait alors envisageable.

d) USP51

USP51 déubiquitine spécifiquement H2AK13/15 in vitro. Au niveau cellulaire, une déplétion d'USP51 entraîne une hypersensibilité aux RI, une augmentation des foyers 53BP1 et une disparition plus lente de ces derniers au cours du temps (Z. Wang et al. 2016).

e) BAP1

BAP1 pour BRCA1-associated protein1 (également nommé UCHL2) possède une activité DUB envers H2AK119ub (Scheuermann et al. 2010). Un défaut de la DDR a pu être observé après déplétion de BAP1 via siARN (Ismail et al. 2014; H. Yu et al. 2014, 1), ainsi qu'une hypersensibilité au RI dans des cellules cancéreuses BAP1-déficientes (Nishikawa et al. 2009; H. Yu et al. 2014). Parallèlement à ces résultats, une augmentation d'ubH2A/H2A.X est observable après RI et déplétion de BAP1 (Ismail et al. 2014; H. Yu et al. 2014), laissant donc supposer un rôle de BAP1 dans la régulation de la transcription au site de CDB. En effet, BAP1-GFP est recruté au niveau de CDB générées par microirradiation laser (Ismail et al. 2014; Nishi et al. 2014).

Enfin, de manière similaire à BRCA1, une déficience cellulaire en BAP1 entraîne une hypersensibilité aux inhibiteurs de PARP, suggérant l'implication de BAP1 dans la voie RH (Ismail et al. 2014; H. Yu et al. 2014).

f) BRCC36

BRCC36 appartient à la famille MPN+/JAMM. Tout comme BAP1, BRCC36 est nécessaire pour une résistance normale des cellules aux RI (Dong et al. 2003). BRCC36 fait partie du complexe BRCA1 et possède une activité catalytique dirigée contre les chaînes poly-ubiquitine d'H2AK63. L'activité de BRCC36 antagonise celle de RNF168 paradoxalement responsable du recrutement du complexe BRCA1 (Shu et al, 2009). BRCC36 est fortement surexprimé dans un grand nombre de cancer du sein et posséderait donc un rôle dans la cancérogénèse (Dong et al. 2003).

g) Autres exemples de DUBs

Les exemples de DUBs détaillés ci-dessus ne peuvent suffire à expliquer la complexité des processus régulant la DDR. Un grand nombre de DUBs possèdent une implication directe ou indirecte dans la DDR et peuvent agir sur des cibles bien plus diverses que les histones. Par exemple, USP47 permet de réguler la voie BER en ciblant la polymérase POL(beta) (Parsons et al. 2011). USP28 interagit avec 53BP1 et possède donc un rôle dans la voie NHEJ. De plus, une délétion d'USP28 entraîne une hypersensibilité aux RI (D. Zhang et al. 2006, 28). OTUB1 inhibe l'activité de RNF168 en bloquant son interaction avec l'enzyme E2 UBC13 (Nakada 2016). Ou à l'inverse, USP34 qui permet de stabiliser RNF168 en empêchant sa dégradation via le protéasome (Sy et al. 2013).

Chapitre 4 : [MYSM1, une histone déubiquitinase]

La première et majeure partie du travail présenté dans cette thèse porte sur l'étude du facteur MYSM1, et de sa possible implication dans la réponse aux dommages de l'ADN (DDR).

MYSM1 est étudié depuis plus d'une quinzaine d'années maintenant (Aravind et Iyer, s. d.) grâce à différents modèles murins et cellulaires humains. Ce chapitre sera donc consacré à une revue de la littérature afin de mettre en lumière les fonctions et interactions de MYSM1 déjà connues, ainsi que les défauts associés à une déficience de ce dernier.

1) MYSM1 : Généralités et structure

Chez l'Homme, le gène *MYSM1* ou *KIAA1915* est localisé sur le chromosome 1 en position p32.1. La taille totale de ce gène est de 16 560 paires de bases permettant la répartition de 20 exons pour un brin d'ADN codant de 2487 bases. Ce gène code une protéine de 828 acides aminés appelée Myb-like SWIRM MPN domain 1 (MYSM1) ou 2A-DUB.

MYSM1 (Myb-like SWIRM and MPN domain 1) est une métalloprotéase nucléaire possédant une séquence bien conservée chez les mammifères. Comme son nom l'indique, celle-ci est composée de trois domaines distincts : un domaine SANT (ou Myb-like), un domaine SWIRM et un domaine MPN+/JAMM.

Les domaines SANT ont été identifiés grâce à leur homologie avec le domaine C-Myb et sont donc parfois nommés domaines Myb-like (Boyer et al. 2002). Un domaine SANT est généralement constitué de trois hélices alpha liées entre elles par des groupements conservés de résidus aromatiques. C'est un domaine caractéristique de facteurs remodeleurs de la chromatine. Il est en effet retrouvé dans de nombreuses sous unités de complexe remodeleurs ATP-dépendants et dans des histones acétyltransférases ou déacétylases (Humphrey et al. 2001). Il est intéressant de préciser qu'un domaine SANT est nécessaire à l'activité de sous unités du complexe SWI/SNF, et qu'un tel domaine se retrouve souvent à proximité d'un domaine SWIRM (Aravind et Iyer, s. d.; Boyer et al. 2002; Yoneyama et al. 2007). Le domaine SANT de MYSM1 se trouve proche de son extrémité N-terminale. Il s'étend de l'acide aminé 116 à 167 chez l'Homme et 113 à 164 chez la

souris. Enfin, il est composé de trois hélices alpha et possède une forte affinité pour l'ADN (Yoneyama et al. 2007).

Le domaine SWIRM (pour SWI3p, Rsc8p and Moira) est présent dans de nombreuses protéines interagissant avec les histones, et notamment au sein de nombreuses sous-unités de complexes remodeleurs ATP-dépendants, tel le domaine SWI/SNF (Aravind et Iyer, s. d.; Qian et al. 2005; Da et al., s. d.). La fonction de ce domaine se retrouve principalement dans la modification de structures chromosomiques permettant le recrutement de facteurs de transcription ou de complexe remodeleurs de la chromatine (Qian et al. 2005; Sohn et al. 2007). Suivant sa conformation, un domaine SWIRM peut permettre différents types d'interactions. Par exemple, le domaine SWIRM de l'histone déméthylase LSD1, lui permet de se lier à l'ADN (Yoneyama et al. 2007). Le domaine SWIRM de MYSM1 se situe entre le domaine SANT et le domaine MPN+/JAMM. Il s'étend de l'acide aminé 372 à 470 chez l'Homme et 363 à 461 chez la souris. Celui-ci est composé de cinq hélices alpha et sa structure est stabilisée autour d'un cœur hydrophobe comme observé dans d'autres domaines SWIRM (Tochio et al. 2006; Qian et al. 2005; Da et al., s. d.). Des expériences d'immunoprécipitation ont démontré que le domaine SWIRM de MYSM1 est requis pour une interaction avec TRAF3 et TRAF6 (TNF receptor associated factor), deux facteurs de la famille TRAF, permettant la transduction du signal d'activation de la réponse immunitaire. Les domaines SANT et MPN+/JAMM n'étant pas nécessaires pour cette interaction (Panda, Nilsson, et Gekara 2015). Egalement, et de manière intéressante, le domaine SWIRM de MYSM1 ne démontre aucune interaction avec l'ADN, à l'inverse de son domaine SANT (Yoneyama et al. 2007).

Les domaines MPN+ (Mpr1, Pad1 N-terminal) sont également appelés JAMM (JAB1/MPN/Mov34 métalloenzyme) et sont un type de domaines retrouvés des archéobactéries aux eucaryotes (Patterson-Fortin et al. 2010; Hepowit et al. 2012). Parmi la famille des domaines MPN, il existe deux sous classes : les domaines MPN+ et les domaines MPN-. La différence entre ces deux sous classes s'explique par le repliement des domaines MPN+ nécessitant la présence d'un ion zinc (Zn²⁺), ce qui n'est pas le cas pour les domaines MPN-. Les domaines MPN+, comme celui présent dans MYSM1, contiennent ainsi un motif JAMM, consistant en une séquence conservée de type HXXH permettant de lier l'ion zinc (Zn²⁺). Cette interaction est à l'origine de l'activité catalytique du domaine qui permet d'hydrolyser la liaison covalente existant entre deux ubiquitines ou un groupement ubiquitine avec la lysine d'une chaîne peptidique (Birol & Echalié, 2014). Les

domaines MPN+ sont ainsi capables d'hydrolyser des chaînes polyubiquitines ou des liaisons ubiquitine/protéine. A l'instar de MYSM1, BRCC36 est un autre exemple de déubiquitinase à domaine MPN+ et des travaux menés sur ce facteur ont démontré une affinité des DUBs de la famille MPN+ pour les chaînes polyubiquitines situées sur les lysines 63 (K63) de différentes cibles (Cooper, Boeke, et Cohen 2010). Le domaine MPN/JAMM+ de MYSM1 se situe entre son domaine SWIRM et son extrémité C-terminale et peut être ubiquitiné (P. Zhu et al. 2007). Il s'étend de l'acide aminé 577 à 709 chez l'Homme et 568 à 700 chez la souris. Il est important de préciser pour la suite que le motif HXHX de la forme humaine de MYSM1 se situe au niveau des acides aminés 656 à 660.

Enfin, MYSM1 possède proche de son extrémité C-terminale un motif LXXLL, au niveau des acides aminés 774 à 778 chez l'Homme et 765 à 769 chez la souris. Cette séquence d'acides aminés est un motif de reconnaissance protéique localisé majoritairement au sein de régulateurs de la transcription. Ce motif étant court, sa capacité d'interaction avec des partenaires protéiques est alors modulée par plusieurs facteurs comme la capacité de la séquence environnante à former une structure en hélice alpha, l'encombrement stérique de la zone concernée ou encore la nature des résidus entourant le motif. Egalement, une interaction via un motif LXXLL nécessite, de manière générale, un changement de conformation (Savkur et Burris 2004; Plevin, Mills, et Ikura 2005).

Ainsi, d'après les données structurales recueillies sur MYSM1, il apparaît que son domaine SANT permet une interaction avec l'ADN. Son domaine SWIRM, ensuite, est nécessaire pour des interactions avec d'autres protéines, tout comme son motif LXXLL. Et enfin, le domaine MPN+/JAMM est responsable de l'activité déubiquitinase de MYSM1.

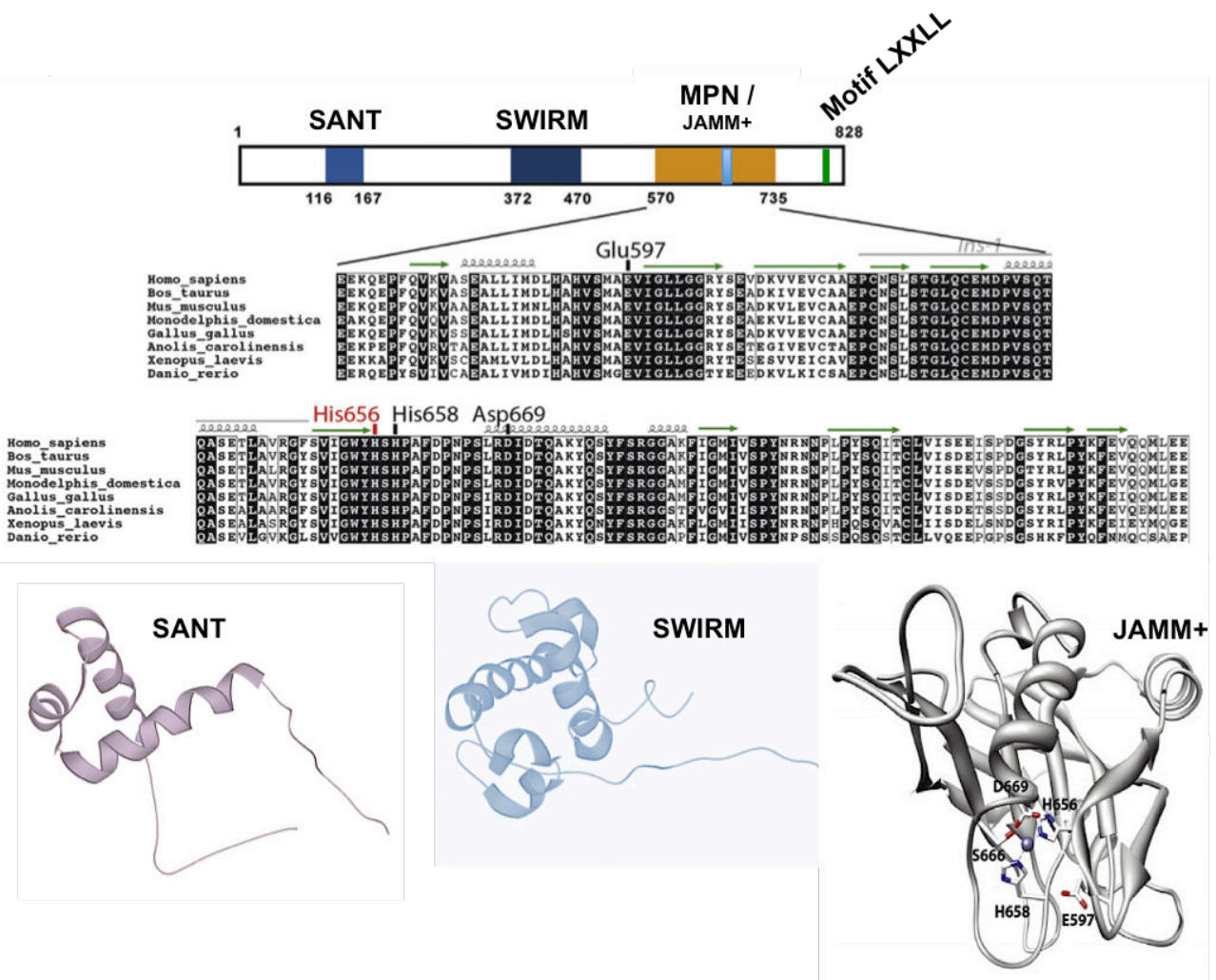


Schéma 14 : Illustration de la structure de la protéine MYSM1.

L'alignement des différentes séquences protéiques démontre la conservation et importance du domaine MPN/JAMM+ au cours de l'évolution. Les structures tridimensionnelles des domaines SANT et SWIRM ont été obtenues à partir du site web Uniprot (<https://www.uniprot.org/uniprot/Q5VVJ2> ; dernière accession: 11 Sept, 2018). La structure tridimensionnelle du domaine JAMM+ a été obtenue en collaboration avec le Dr. Isabelle Callebaut (ENS, Paris).

2) Fonctions et interactions de MYSM1

a) MYSM1, chromatine et expression génique

MYSM1 est une protéine nucléaire ayant la capacité d'interagir avec la chromatine, et possédant une activité de déubiquitination spécifique envers la lysine 119 mono ubiquitinée de l'histone H2A (H2AK119ub) (P. Zhu et al. 2007). Cette marque hétérochromatinienne est associée à une répression de la transcription (Hengbin Wang et al. 2004; Benitz et al. 2016) et MYSM1, via son activité de déubiquitination, est donc un acteur important de la dérpression transcriptionnelle.

Cette activité de MYSM1 ciblant H2AK119ub passe par la formation d'un complexe avec l'histone acétyltransférase pCAF. Ce complexe régule l'initiation de la transcription par relaxation de la chromatine, en coordonnant la déubiquitination d'H2A avec l'acétylation d'histones avoisinantes. Des expériences de co-immunoprécipitations ont révélé une interaction directe entre pCAF et MYSM1, et ces résultats corrélerent avec le fait qu'acétylation et ubiquitination sont généralement opposés en termes d'expression génique (P. Zhu et al. 2007). Concernant son activité, MYSM1 déubiquitine préférentiellement H2AK119ub au niveau de nucléosomes hyperacétylés et donc ciblés par pCAF. Également, des travaux menés dans des cellules HEK293T ont révélé qu'une suppression de pCAF entraîne une augmentation du niveau global d'H2Aub au sein du noyau, ainsi qu'une abolition de l'activité transcriptionnelle liée à MYSM1 (P. Zhu et al. 2007). Enfin, un défaut en MYSM1 entraîne une augmentation en H3K27me3 au niveau du promoteur de gènes cibles (T. Wang et al. 2013). Ces observations démontrent toute l'importance de l'interaction pCAF-MYSM1, ainsi que des MPT d'histones orchestrées par ces deux facteurs. Ces dernières permettent alors la relaxation de la chromatine via une dissociation de l'histone H1 servant de lien entre les nucléosomes (P. Zhu et al. 2007; J.-M. Kim et al. 2015).

b) MYSM1, facteurs de transcription et gènes cibles

Un niveau élevé de prolifération/différenciation, comme dans le système hématopoïétique, la peau ou les intestins, nécessite une étroite collaboration entre remodelages chromatiniens, modifications d'histones et facteurs de transcription. Cette régulation complexe permet

d'orchestrer la différenciation et la maintenance des cellules souches, et d'assurer un stock fonctionnel de ces dernières, tout au long de la vie d'un individu (Levine et Berger 2017).

MYSM1 a été identifié lors d'un screening de régulateurs de la transcription, comme régulateur positif de l'activité du récepteur aux androgènes (RA). USP22 est requis pour l'activité transcriptionnelle du récepteur aux androgènes (RA) tout comme MYSM1 (P. Zhu et al. 2007; Y. Zhao et al. 2008).

Grâce à des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP-seq), MYSM1 a révélé une interaction avec près de 1000 loci de gènes (X.-X. Jiang et al. 2011). Au cours des dernières années, MYSM1 a démontré une implication dans la transcription de nombreux gènes liés au développement des cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques (CSH) ou mésenchymateux (CSM) (Nijnik et al. 2012; P. Li et al. 2016, 1; Haffner-Luntzer et al. 2018).

En se liant avec des facteurs de transcription (FT), MYSM1 permet d'activer la transcription de gènes cibles. Différents FT comme E2A (X.-X. Jiang et al. 2011), PU.1 (Won et al. 2014) ou NFIL3 (V. Nandakumar et al. 2013) sont décrits comme interagissant avec MYSM1. Ces derniers donnent à MYSM1 une grande importance dans la différenciation, le développement et le maintien de nombreuses lignées hématopoïétiques. En effet, ces interactions permettent l'expression de gènes tels *Ebf1*, *Pax5*, *Gfi1*, *Id2* ou *Flt3* (X.-X. Jiang et al. 2011; V. Nandakumar et al. 2013; T. Wang et al. 2013; Won et al. 2014; Gatzka et al. 2015). *Ebf1*, *Pax5* ou *Gfi1* sont essentiels au développement et à la maturation des lymphocytes B, par exemple (X.-X. Jiang et al. 2011; Vilagos et al. 2012; Åhsberg et al. 2013). En ce qui concerne le gène *Flt3*, important pour le développement de cellules dendritiques, une augmentation d'H2AK119ub, corrélée avec une augmentation d'H3K27me3, a été observée au niveau de son promoteur dans des cellules CSH de souris déficientes en MYSM1 (Won et al. 2014).

Il est intéressant d'ajouter ici qu'une interaction directe a été décrite entre MYSM1 et les facteurs BRM (ou SMARCA2) et BRG1 (ou SMARCA4), qui sont des sous-unités importantes du complexe SWI/SNF (Reisman, Glaros, et Thompson 2009; X.-X. Jiang et al. 2011). De plus une réduction du niveau de BRM (par siARN) entraîne un défaut de transcription d'*Ebf1* avec une présence réduite de MYSM1 sur son promoteur (X.-X. Jiang et al. 2011). Ainsi, l'activité de MYSM1 envers H2AK119ub, permettant l'initiation de la transcription, semble nécessiter en plus de pCAF, la présence de complexes remodeleurs de la chromatine ou de certains de leurs sous-unités.

Concernant les CSM, un défaut de MYSM1 affecte la transcription de gènes responsables de leur différenciation en adipocytes ou ostéoblastes, menant vers une adipogénèse plus importante

et une diminution de l'ostéogénèse (P. Li et al. 2016). Par exemple, un défaut en MYSM1 mène à une dérégulation de l'expression du gène *Runx2*, nécessaire à la différenciation des ostéoblastes (Haffner-Luntzer et al. 2018).

Enfin, aucune modification significative au niveau de l'expression génique n'a été observée entre des MEFs WT et MYSM1 KO (MyKO), ni au niveau d'HAK119ub. MYSM1 ne semble pas avoir un rôle de gène de ménage concernant la régulation de la transcription et cette activité semble donc être tissu spécifique (Nijnik et al. 2012). Egalement, une différence faible au niveau de l'expression génique a été observée au sein de cellules souches embryonnaires (CSE), entre WT et MyKO. En revanche, aucune différence dans les niveaux d'H2AK119 n'a été relevée.

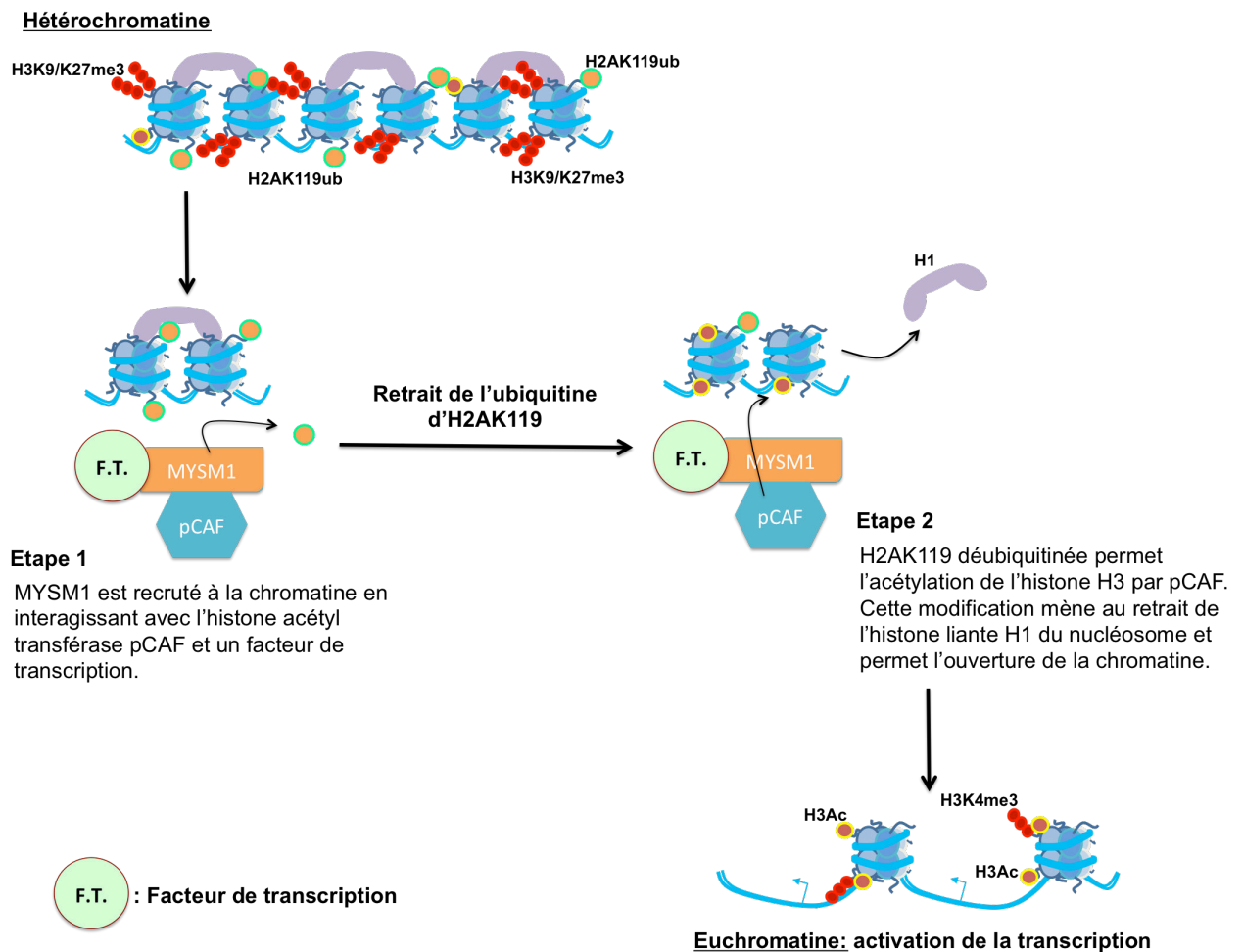


Schéma 15 : Illustration du mode d'action de MYSM1 dans la régulation de la transcription.

c) MYSM1 et p53

Le facteur p53 est un régulateur central de la réponse cellulaire au stress (Levine et Oren 2009). Il est exprimé de manière constante par les cellules mais est dégradé rapidement via son interaction avec MDM2 (« The MDM2-P53 Pathway Revisited » 2013, 2). Lors d'un stress cellulaire, comme une CDB de l'ADN, son interaction avec MDM2 est déstabilisée. Cette étape permet sa stabilisation et l'augmentation de sa concentration au sein de la cellule (« The MDM2-P53 Pathway Revisited » 2013, 2). p53 agit alors comme régulateur de la transcription de voies spécifiques. Il permet d'initier l'arrêt du cycle cellulaire, l'entrée des cellules en sénescence et en dernière mesure, la mort cellulaire programmée ou apoptose (T. Li et al. 2012; Wawryk-Gawda et al. 2014). C'est donc un facteur majeur considéré comme protecteur contre la tumorigénèse. En effet, il empêche l'accumulation d'une instabilité génomique en induisant la mort cellulaire, ce qui explique que sa fonction se retrouve altérée dans de nombreuses lignées cancéreuses (« The MDM2-P53 Pathway Revisited » 2013, 2; Tokino et Nakamura 2000). Concernant les CSH, p53 possède d'autres fonctions (Pant, Quintas-Cardama, et Lozano 2012; Asai et al. 2011). Il peut intervenir dans la quiescence de ces cellules (Y. Liu et al. 2009; Dumble et al. 2007), dans la régulation d'antioxydants ou dans la réparation de l'ADN (Abbas et al. 2010; Blanpain et al. 2011). Enfin, il est aussi impliqué dans différents checkpoints de différenciation des CSH (J. Wang et al. 2012). Il peut par exemple affecter la transcription du gène *Gfi1* (T. Wang et al. 2013; Y. Liu et al. 2009).

Une interaction directe entre MYSM1 et p53 a été observée lors d'expériences de co-immunoprécipitations. Leur colocalisation, au niveau de promoteurs de gènes cibles de p53, a également été rapportée (Belle et al. 2016). En effet, MYSM1 est recruté au niveau des promoteurs de gènes cibles de p53, comme *Bbc3* (codant le facteur PUMA) ou *Cdkn1* (codant le facteur p21) et ce recrutement apparaît augmenté après irradiation (Belle et al. 2016).

De plus, au niveau des promoteurs de ces gènes, une déplétion de MYSM1 s'accompagne d'un recrutement accru de p53 et d'une forte augmentation d'H3K27ac et H3K4me3. Ces modifications, correspondant à l'activation du promoteur, marquent une augmentation de la transcription des gènes cibles de p53 (Belle et al. 2016). MYSM1 apparaît donc comme régulateur négatif de l'expression des gènes cibles de p53, que ce soit en conditions physiologiques ou en réponse à un stress. De plus, cette inhibition de la transcription est réalisée par recrutement de MYSM1 au niveau des promoteurs de ces gènes. Sa présence semble alors antagoniser le

recrutement de p53 et inhiber certaines MPT d'histones comme H3K27ac et H3K4me3 (Belle et al. 2016). Ces observations décrivent donc une fonction de MYSM1 à l'opposé de la dérégulation transcriptionnelle qui lui était initialement attribuée, rendant ses rôles multiples plus complexes.

d) Autres interactions et fonctions de MYSM1

i) TRAF3 et TRAF6 :

Au sein de macrophages et après leur activation par les récepteurs aux pathogènes (PRR : pattern-recognition receptors), MYSM1 est délocalisé du noyau vers le cytoplasme avant d'être rapidement dégradé via le protéasome. Après stimulation du macrophage par infection, MYSM1 s'accumule dans le cytoplasme des cellules en 30 à 60 minutes, et disparaît autour de 180 minutes post-stimulation (Panda, Nilsson, et Gekara 2015). Une inhibition de la synthèse protéique a permis d'abolir cette accumulation cytoplasmique sans perturber le niveau de MYSM1 nucléaire, ce qui signifie que la stimulation de ces cellules entraîne une augmentation rapide et brève de l'expression de MYSM1.

MYSM1 cytoplasmique interagit alors avec les facteurs TRAF3 et TRAF6. Il permet leur stabilisation en retirant les chaînes polyubiquitines situées sur la lysine 63 (K63) de ces derniers (Panda, Nilsson, et Gekara 2015). TRAF3 et TRAF6 (Tumor necrosis factor Receptor – Associated Factors) sont des molécules de signalisations cellulaires impliqués dans la réponse immunitaire aux pathogènes, et plus particulièrement dans la régulation de la réponse inflammatoire. En retirant leur chaîne de polyubiquitine, MYSM1 évite leur dégradation via le protéasome, pour un court laps de temps, favorisant la réponse inflammatoire. Il est intéressant de préciser ici que MYSM1 cytoplasmique se lie aux K63polyub de TRAF3 et TRAF6 mais ne se lie pas à pCAF. Egalement, comme mentionné précédemment, cette interaction entre TRAF3/TRAF6 et MYSM1 dépend uniquement du domaine SWIRM de ce dernier (Panda, Nilsson, et Gekara 2015).

Ces observations font de MYSM1 un modulateur important de l'immunité innée en contenant l'activation macrophagique. En effet, son absence s'accompagne d'une réponse inflammatoire exagérée permettant une clairance virale plus rapide mais rendant l'organisme plus permissif aux maladies inflammatoires, chez la souris et chez l'Homme (Panda, Nilsson, et Gekara 2015).

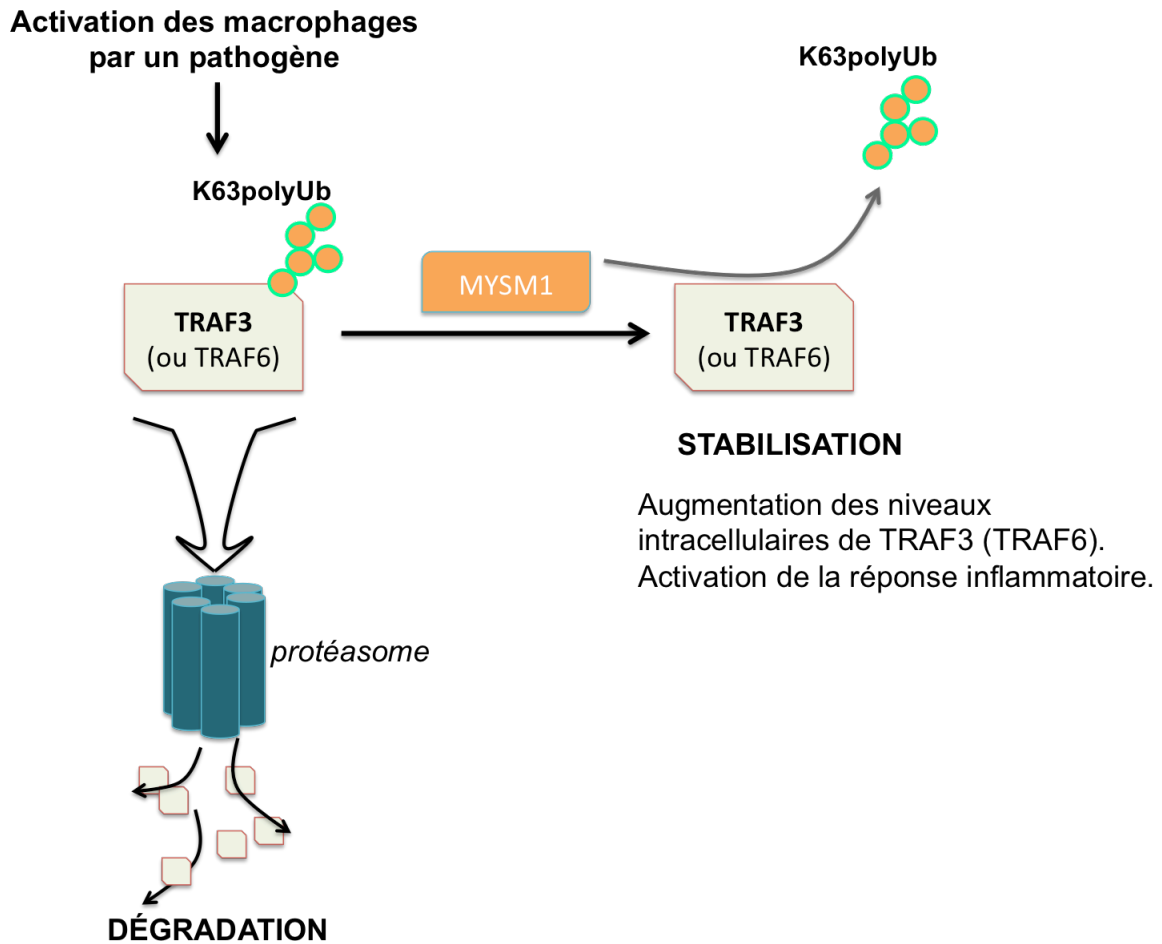


Schéma 16 : Illustration d'une fonction de MYSM1 dans la déubiquitination de facteurs non-chromatiniens.

ii) MYSM1 et cancers :

Lors de la transformation de cellules en cellules cancéreuses, une surexpression de MYSM1 permettrait une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans la croissance et la prolifération cellulaire. En effet, MYSM1 est surexprimé dans certains cancers de la prostate et cette observation corrèle avec un niveau réduit d'H2AK119ub dans les cellules de ces derniers (P. Zhu et al. 2007; Wilms et al. 2017). Egalement, MYSM1 est surexprimé dans un grand nombre de mélanomes humains. Ces cancers de la peau démontrent, dans de nombreux cas, une surexpression du gène *cMET* impliqué dans la survie des mélanosomes. De façon intéressante, il a été montré que MYSM1 pouvait se lier au promoteur de ce gène (Kubic et al. 2015; Scholl et al., s. d.; Puri et al. 2007; Wilms et al. 2017).

Une surexpression de MYSM1 a aussi été observée dans des cas de cancers colorectaux (Y. Li et al. 2017). Le traitement de cellules SW40, issues de métastases d'un ganglion lymphatique, par des siARN afin de diminuer l'expression de MYSM1, a démontré une réduction de la capacité de

migration et d'invasion de ces cellules (Y. Li et al. 2017). Ces résultats font donc de MYSM1 un facteur potentiellement oncogène. Cependant, ce dernier a également démontré des fonctions inverses en ralentissant la migration et l'invasion de carcinomes rénaux via une inhibition de leur transition épithélio-mésenchymateuse (Zhou et al. 2016).

3) Conséquences d'un défaut de MYSM1

a) Etude de modèles murins

MYSM1 est exprimé de façon quasi ubiquitaire durant les premières étapes de développement embryonnaire et devient plus spécifique en avançant vers le stade adulte (Nijnik et al. 2012).

Les souris déficientes en MYSM1 (*Mysm1*^{-/-} ou MyKO), à l'instar des souris déficientes en USP3 (*Usp3*^{-/-}), sont viables mais démontrent des anomalies morphologiques et fonctionnelles (Nijnik et al. 2012; X.-X. Jiang et al. 2011; Lancini et al. 2014a). De plus, les souris MyKO sont caractérisées par un niveau significatif de mortalité embryonnaire en ne représentant que 10% d'une portée dans un croisement de parents hétérozygotes (Nijnik et al. 2012). Les souris MyKO présentent un retard de croissance intra utérin, avec une taille et un poids plus faible que la moyenne, et des défauts développementaux comme une queue tronquée ou une paralysie des pattes arrières (X.-X. Jiang et al. 2011; Nijnik et al. 2012). Il est intéressant de préciser que la paralysie des membres inférieurs et le défaut de préhension observée chez les souris MyKO, ressemblent à un défaut causé par une délétion du facteur de transcription Pax3 (Epstein et al. 1996; Nijnik et al. 2012; Belle et al. 2016). Les souris portant une mutation hétérozygote du gène *MYSM1* (MyHET) ne montrent aucune différence avec des souris possédant un gène MYSM1 normal (WT) (X.-X. Jiang et al. 2011).

i) Défauts immuno hématologiques :

Une absence de MYSM1 dans un modèle murin révèle une létalité embryonnaire partielle, un retard de croissance et également une déficience hématopoïétique sévère incluant une lymphopénie et une anémie (X.-X. Jiang et al. 2011; Nijnik et al. 2012; V. Nandakumar et al. 2013).

MYSM1 est particulièrement actif (au niveau régulation transcriptionnelle) dans le système hématopoïétique (Nijnik et al. 2012). Comme expliqué précédemment, celui-ci agit contre la répression transcriptionnelle de nombreux gènes essentiels pour le développement et la différenciation de plusieurs lignées. La fréquence de pré et pro lymphocytes B est grandement réduite chez les souris MyKO au sein de la moelle osseuse, révélant un blocage dans le développement des lymphocytes B précoces (X.-X. Jiang et al. 2011). Les souris MyKO démontrent aussi une réduction de la fréquence et du nombre de lymphocytes NK. En revanche, les lymphocytes T (CD4+ et CD8+) sont moins affectés par une déficience en MYSM1, avec une réduction moins importante de leurs populations (V. Nandakumar et al. 2013). Enfin, une anémie avec réduction du nombre d'érythrocytes et une thrombocytose (augmentation du taux de plaquettes) sont caractéristiques d'un modèle MyKO (Nijnik et al. 2012).

Cette altération des lignées hématopoïétiques s'explique par un défaut de l'homéostasie et de la quiescence des CSH (Huo et al. 2018) ainsi qu'un blocage de la différenciation au niveau des lignées lymphoïdes et érythroïdes. Les composants du complexe PRC1 (Bmi1, Me18, Ring1a/b), qui reconnaissent H3K27me3 et inhibent de façon compétitive le complexe remodeleur de la chromatine SWI/SNF, sont des régulateurs reconnus de la maintenance des CSH et du développement des lymphocytes T (Majewski et al. 2010; Naito et Taniuchi 2013). De façon comparable à la pathophysiologie de souris déplétées en Bmi1 (membre du complexe PRC1), une lymphopénie post-natale des souris MyKO corrèle avec une déplétion progressive des CSH probablement causée par une activation de la DDR, due à une surproduction de ROS dans ces lignées hématopoïétiques (Nijnik et al. 2012).

ii) Défauts de l'ostéogénèse et cutanés :

Un modèle murin MyKO se caractérise également par un défaut de l'ostéogénèse avec une réduction en taille et densité des os longs, et une augmentation de l'adipogénèse (P. Li et al. 2016). Ce défaut d'ostéogénèse, s'aggravant avec l'âge (P. Li et al. 2016), peut s'expliquer par l'importance de MYSM1 pour la différenciation et la survie des ostéoclastes et des ostéoblastes. En effet, un défaut de différenciation de ces cellules corrèle avec un défaut d'expression du gène *Runx2* (Vimalraj et al. 2015; Haffner-Luntzer et al. 2018), dont l'absence de MYSM1 pourrait être la cause.

Un modèle murin MyKO démontre également un phénotype anormal au niveau des follicules de la peau et de la migration des mélanoblastes (Liakath-Ali et al. 2014). En effet, les souris MyKO affichent une décoloration sous forme de taches blanches au niveau du ventre. Cette

décoloration caractéristique apparait autour du 14^{ème} jour de vie et correspond à un phénotype « Bst » (Belly-spot and tail) (Wilms et al. 2017). Ces tâches sont communes dans des modèles de souris caractérisés par une délétion de gènes impliqués dans la régulation de la fonction et de la différenciation des mélanocytes, et dans l'apparition de mélanomes (G. J. Walker et Hayward 2002; I. J. Jackson, s. d.).

Il faut ici ajouter qu'aucun défaut au niveau du collagène n'a été relevé dans la peau des souris MyKO. Cette fonction des fibroblastes ne semble donc pas être affectée par une perte de MYSM1 (Wilms et al. 2018).

iii) MYSM1 et p53 chez la souris :

Les modèles de souris MyKO démontrent une augmentation des niveaux de p53 et de ROS au sein des CSH (Nijnik et al. 2012). Cette augmentation du stress oxydatif pourrait expliquer, au moins partiellement, l'activation et les niveaux élevés de p53 dans ces cellules. Or, un traitement par antioxydants de ces souris n'a révélé aucune amélioration du phénotype. L'augmentation de ROS dans ces cellules ne semble donc pas être à l'origine de l'activation de p53 (Belle et al. 2015). Cette augmentation semble en fait provenir d'une augmentation de l'expression du facteur p19^{ARF}, due à une absence de MYSM1. En effet, p19^{ARF} permet la stabilisation de p53 en bloquant l'action de MDM2 (Gatzka et al. 2015; Biegging-Rolett et al. 2016). MYSM1, qui est impliqué dans la répression transcriptionnelle des voies sous-jacentes de p53, inhibe l'activation de p53 en bloquant la transcription du facteur p19^{ARF}.

De façon surprenante et en contraste avec des souris MyKO qui démontrent des défauts développementaux et un retard de croissance, les souris doublement déficientes en MYSM1 et p53 (DKO) ne démontrent aucun de ces défauts et affichent une taille et une apparence normales (Belle et al. 2015). Ceci est particulièrement remarquable pour le développement de la queue qui est totalement corrigé dans la DKO p53/mysm1. Ces souris DKO possèdent également une lymphopoïèse normale (Belle et al. 2015). Il apparait alors que la suppression de p53 restaure les mécanismes d'auto régénération et différenciation des CSH. De façon intéressante, un modèle de souris MyKO p53+/- dévoile un phénotype hématopoïétique intermédiaire, suggérant un effet dose-dépendant pour l'activité de p53 (Belle et al. 2015).

Les souris DKO meurent après 6 à 9 mois, majoritairement à cause de lymphomes thymiques (Belle et al. 2015). Et, ces tumeurs ressemblent à celles développées par les souris déficientes en p53 (Donehower 2014). Par ailleurs, une augmentation significative de l'espérance de vie a été

observée chez les souris MyKO p53+/- en comparaison aux souris MyKO ou DKO (Belle et al. 2015). Cette amélioration pourrait s'expliquer par une amélioration de l'homéostasie des CSH, repoussant une létalité liée au cancer.

En allant plus loin dans la voie p53, la génération de modèles murins déficients en MYSM1 et PUMA (DKOpuma) a démontré une restauration du phénotype concernant les défauts cutanés, les malformations des pattes arrière et de la queue, ainsi qu'une réduction du retard de croissance intra utérin. Ce modèle de souris DKOpuma a également révélé une restauration de la cellularité au niveau de la moelle osseuse, suggérant une récupération de l'hématopoïèse bien que la cellularité au niveau du thymus et de la rate soit restée basse. En parallèle, un modèle murin déficient en MYSM1 et p21 (DKOp21) a révélé un taux élevé de mortalité embryonnaire ou néonatale, et les animaux survivants n'ont démontré aucune amélioration du phénotype (Belle et al. 2016).

Cette amélioration du phénotype via un double KO MYSM1 et PUMA pourrait s'expliquer par une viabilité synthétique résultant d'une diminution de signaux pro apoptotiques (Jeffers et al. 2003). L'augmentation des ROS observés dans les CSH de souris MyKO pourrait également être le fait d'une surexpression de PUMA dans ces cellules (Z. Liu et al. 2005). Il est cependant important de préciser que la lymphopoïèse n'est pas restaurée dans un modèle murin DKOpuma, signifiant que le défaut de lymphopoïèse observé dans les souris MyKO est dû à un autre aspect de la voie p53. En effet, ce défaut est restauré dans la souris DKO (Belle et al. 2016). Enfin, l'expression de MYSM1 dans les tissus cutanés diminue avec l'âge chez la souris, et cette perte de MYSM1 entraîne une atrophie cutanée due à une cellularité réduite. Ce phénomène peut alors s'expliquer par une augmentation de l'apoptose de manière p53 dépendante. En effet, ces défauts cutanés sont corrigés dans la souris DKO (Wilms et al. 2018).

iv) MYSM1 et DDR :

Une instabilité génomique a été observée dans des modèles de souris MyKO. Cette instabilité se traduit par une augmentation des niveaux de pH2A.X dans certains types cellulaires comme les CSH (Nijnik et al. 2012), les kératinocytes ou les mélanocytes (Wilms et al. 2017, 2018). L'origine de cette instabilité est incertaine. Elle pourrait s'expliquer par l'état pro apoptotique de ces cellules (activation de p53) en l'absence de MYSM1 (Fumagalli et al. 2014), ou par une fonction encore inconnue de MYSM1 au sein de la DDR, expliquant une instabilité génomique si celle-ci venait à être déstabilisée.

Dans le prolongement de cette hypothèse, une mortalité élevée des souris MyKO a été observée à la suite d'une irradiation (RI) ou d'un traitement au 5-fluoro-uracile (5FU) qui entraîne un stress réplicatif (T. Wang et al. 2013; J. J. Lee, Beumer, et Chu 2016). Egalement, une absence de MYSM1 augmente la sensibilité aux RI des lymphocytes T CD8+, via une augmentation de l'apoptose p53-dépendante, mais ne change pas la sensibilité des lymphocytes T CD4+. Cette augmentation de l'apoptose des lymphocytes T CD8+ se retrouve aussi après stimulation du TCR (Förster et al. 2017).

Enfin, MYSM1 a été décrit comme étant surexprimé après exposition aux UV de cellules du derme (kératinocyte et mélanocytes) (Wilms et al. 2017).

b) Déficience de MYSM1 chez des patients humains

Il existe seulement trois publications rapportant un défaut de MYSM1 chez l'Homme. Les résultats obtenus après étude de ces patients seront présentés ci-dessous, en respectant l'ordre chronologique des publications.

i) (Alsultan et al. 2013):

Une mutation homozygote c.1168 G>T, située sur le gène *MYSM1*, a été identifiée dans une fratrie de deux enfants présentant une anémie, une thrombocytopénie et des niveaux faibles de lymphocytes NK et B. De façon intéressante, ces deux enfants partagent un phénotype immunologique proche de celui des modèles murins MyKO.

Le premier patient est une jeune fille de 4 ans (au moment du diagnostic) ayant montré des signes d'anémie à l'âge de 4 mois, nécessitant des transfusions sanguines régulières. Celle-ci, hormis une dysmorphie faciale, ne présentait aucun défaut développemental. A 6 mois, une analyse de la moelle osseuse a révélé une hypocellularité légère qui s'est corrigée avec le temps. La patiente est devenue transfusion indépendante à l'âge de 9 mois avec un retour à la normale du niveau d'hémoglobine.

Le deuxième patient est le frère cadet de la première patiente. A l'âge de 15 mois, celui-ci a présenté des signes identiques d'anémie avec une chute de l'hémoglobine. L'évolution de la pathologie a suivi le même chemin que celle de sa sœur, bien que sa dépendance envers les transfusions sanguines se soit prolongée jusqu'à l'âge de 33 mois. Une étude de sa moelle osseuse a révélé une érythropoïèse avec granulopoïèse et mégacaryopoïèse réduites ainsi que des

aberrations nucléaires au niveau des précurseurs érythroïdiens (présence de noyaux binucléés et de ponts chromatinien internucléaires).

Une cartographie d'homozygotie du génome a été réalisée sur cette famille. Une mutation homozygote faux-sens du gène codant la protéine MYSM1 et portée par les deux patients a été identifiée (c.1168G>T) menant au remplacement de l'acide aminé E390 par un codon stop (p.E390*) (Alsultan et al. 2013).

Malgré la description de ces deux phénotypes cliniques très similaires et l'identification d'une mutation sur le gène *MYSM1*, les auteurs n'ont pu démontrer de façon formelle un lien entre la pathologie observée et un défaut de MYSM1.

ii) (Le Guen et al. 2015):

Les résultats publiés par Le Guen et al, en 2015 ont été obtenus au sein du laboratoire DGS1 et ont permis d'initier les travaux présentés dans cette thèse.

Le patient, décrit par Le Guen et al., est un garçon, premier né d'une famille consanguine d'origine Turque. Celui-ci est né à terme. A la naissance, son poids et sa taille étaient dans la moyenne basse (25eme percentile) et celui-ci présentait une microcéphalie. Il souffrait également de détresse respiratoire due à une atrésie des choanes, et d'une surdité bilatérale due à une absence de nerfs cochléovestibulaires. Ce patient présentait également une anémie arégénérative sévère accompagnée d'une leucopénie. Des prélèvements de la moelle osseuse et un test CFA pour « colony-forming assay » ont révélé une forte réduction des progéniteurs érythroïdes et granulomonocytaires en comparaison d'un contrôle sain. Egalement un blocage au niveau de la différenciation des lymphocytes B a pu être relevé. Au niveau périphérique, le patient présentait une absence complète de lymphocytes B (alymphocytose B), une réduction importante des lymphocytes T (lymphopénie T) et particulièrement des lymphocytes T CD4+, et une réduction plus modérée des lymphocytes NK. Il est important d'ajouter qu'une réduction importante des lymphocytes T CD4+ naïfs, dans les échantillons de sang du patient, s'accompagnait d'un répertoire du TCR normalement diversifié.

La recherche d'un facteur génétique impliqué dans cette pathologie par cartographie d'exome complet (Whole Exome Sequencing) couplée à une recherche d'homozygotie (Whole Genome Homozygosity Mapping) a permis d'identifier une mutation homozygote affectant le gène

MYSM1. Cette mutation se trouve en position 1967 (c.1967A>G) et mène à la substitution d'un acide aminé (p.H656R). Cette substitution se situe dans le domaine MPN+/JAMM, au niveau de la séquence HXXHXX responsable de l'interaction avec l'ion zinc (Zn²⁺). Des expériences d'immunofluorescence ont montré que la mutation menait à une réduction de la stabilité de la protéine. En effet, la protéine *MYSM1* mutée, ou H656R, est localisée au niveau du noyau mais de manière moins abondante. Ce niveau plus faible d'H656R a été confirmé via Western blots, à partir de lysats protéiques issus de fibroblastes primaires du patient.

Au cours de cette étude, une amélioration importante du bilan immuno hématologique du patient a pu être observée après quelque mois. De façon étonnante, malgré une absence totale de lymphocytes B depuis la naissance, un niveau normal de ces derniers a pu être relevé à l'âge de 33 et 39 mois. Ces lymphocytes B présentaient un répertoire du BCR polyclonal diversifié et leur apparition a été accompagnée d'une correction des niveaux de lymphocytes T et NK, des réticulocytes et des neutrophiles circulants. Afin de comprendre l'origine de cette amélioration spontanée du phénotype immuno hématologique du patient, de l'ADN génomique issu des lymphocytes B nouvellement apparus a été soumis à une analyse d'haplotype par microsatellites. Ce test a permis de vérifier que ces nouvelles cellules ne provenaient pas de cellules maternelles, comme cela peut être le cas dans certaines situations (Touzot et al. 2012). Un séquençage du gène *MYSM1* dans ces cellules a été réalisé par la suite, révélant une réversion génétique sur un allèle. Les fibroblastes du patient présentaient donc une mutation homozygote c.1967A>G alors que les lymphocytes B présentaient une mutation hétérozygote c.1967A>G. Cet événement somatique rare est appelé « back mutation » ou réversion génétique « vraie » (Gregory et al. 2001; Gross et al. 2002). Afin de préciser l'origine de cette réversion, un séquençage de plusieurs types cellulaires triés, provenant d'un prélèvement de moelle osseuse ou sanguin, a été réalisé. Celui-ci a permis de quantifier la présence de séquence WT ou mutée au sein des différentes lignées. Cette technique a alors mis en évidence une hétérozygotie pour la réversion du gène *MYSM1* dans les CSH du patient. La réversion génétique spontanée semble ainsi avoir eu lieu au sein d'une cellule souche hématopoïétique, menant à la restauration d'un phénotype immuno hématologique normal par avantage sélectif, confirmée par une hétérozygotie dans toutes les lignées immuno hématologiques du patient (Le Guen et al. 2015).

Ces travaux ont permis d'associer une mutation affectant la stabilité de la protéine *MYSM1* à une défaillance du système hématopoïétique, menant à une immunodéficience sévère. En

revanche, bien que le phénotype clinique du patient ressemble fortement au phénotype d'un modèle murin MyKO, aucune donnée ne permet d'expliquer les défauts développementaux accompagnant cette immunodéficiences.

iii) (Bahrami et al. 2017):

Les résultats obtenus par Bahrami et al. ont été publiés trois ans après le début de cette thèse. Ceux-ci ont donc permis d'obtenir plus d'informations quant aux possibles conséquences d'un défaut de *MYSM1*.

En effet, Bahrami et al. rapportent ici une étude menée sur deux patients issus d'une même fratrie (frère et sœur) et souffrant d'une aplasie médullaire avec un syndrome myélodysplasique, une immunodéficiences sévère et des problèmes développementaux (déformations du squelette et cataracte) ainsi qu'un retard mental dû à un volume réduit de la boîte crânienne. Une analyse génétique de cette famille a permis d'identifier la présence d'une mutation du gène *MYSM1* (c.1168G>T), menant à l'apparition d'un codon stop p.E390* identique à celle décrite par Asultan et al. De manière intéressante, les cellules de ces patients ont révélé une sensibilité accrue au stress génotoxique avec une augmentation de phospho-p38, de ROS et une diminution de la survie après irradiation aux UV.

Le premier patient est né prématurément, et souffrait dès la naissance d'une anémie sévère. Durant les deux premières années de vie, ce dernier a également développé plusieurs épisodes d'infections pulmonaires. Le phénotype clinique de ce patient regroupe une défaillance médullaire, un retard de croissance et des défauts développementaux incluant une asymétrie thoracique et fémorale, une taille réduite des os métacarpiens, une peau sèche, une trigonocéphalie (fusion précoce de la suture métopique qui donne au front une forme triangulaire), une déformation du faciès, une hyperplasie des gencives, une cataracte bilatérale et un retard mental associé à une microcéphalie.

Le second patient est également né prématuré, et souffrait d'une anémie et d'une insuffisance cardiaque. Durant les deux premières années de vie, celui-ci a déclenché deux épisodes infectieux des voies respiratoires supérieures. Son phénotype clinique regroupe une défaillance médullaire, un retard de croissance et des problèmes développementaux incluant des bras et doigts courts, une protrusion bilatérale des clavicules, une peau sèche accompagnée d'eczéma, une cardiomyopathie, une déformation du faciès, une hyperplasie des gencives avec un retard de la dentition et un retard mental associé à une microcéphalie.

Une analyse des biopsies de moelle osseuse de ces patients a révélé, dans les deux cas, une hypocellularité ainsi qu'un niveau augmenté d'adipocytes. Une analyse cytogénétique de précurseurs myéloïdes ou de cellules lymphoïdes traités à la mitomycine C a révélé un caryogramme normal.

Les cellules sanguines (PBMC) des patients ont présenté un niveau augmenté de p_{H2A.X} basal comparé à un contrôle sain ou aux cellules des parents. Après irradiation UV, une augmentation du niveau de p_{H2A.X} a été observée indépendamment de la présence de MYSM1. Cependant, les cellules des patients ont démontré une réduction du nombre de foci p_{H2A.X} plus lente avec des niveaux élevés de p_{H2A.X} toujours présents 72 heures après irradiation UV.

Concernant la réponse au stress, une augmentation de l'activation de p53 et du niveau de ROS après stress génotoxique a été observée dans les fibroblastes de ces patients. Une restitution partielle de la résistance aux UV a été observée après transfection et reconstitution de l'expression de MYSM1. De plus, les cellules des patients ont démontré une récupération plus lente du cycle cellulaire après irradiation UV ainsi qu'une augmentation du taux de cellules apoptotiques. Les cellules B-EBV des patients ont également révélé une sensibilité accrue à l'étoposide, composé génotoxique bloquant l'activité de l'ADN polymérase et induisant un stress répliatif (Bahrami et al. 2017).

	Asultan et al. (2013)		Le Guen et al. (2015)	Barahmi et al. (2017)	
	Patient 1	Patient 2	Patient M	Patient 4	Patient 5
Mutation	c.1168G>T:pE390*	c.1168G>T:pE390*	c.1967A>G:pH656R	c.1168G>T:pE390*	c.1168G>T:pE390*
Infection(s)				Hospitalisé suite à infections sévères des voies aériennes supérieures	
Néonatalogie			A terme ; 2,62kg Leucopénie + stress respiratoire (atrésie des choanes)	Prématuré (33eme semaine) ; 1,4kg Anémie	Prématuré (33eme semaine) ; 2,12kg Anémie + réanimation cardio respiratoire
Croissance			A la naissance Poids: 2,62kg (percentile 5,4%) Taille: 47cm (percentile 6,4%) Crâne: 32cm (percentile 0,0%)	2ans et 4mois Poids: 11kg (percentile 8,2%) Taille: 81,5cm (percentile 1,3%) Crâne: 47cm (percentile 30,9%)	3mois Poids: 5,7kg (percentile 16,8%) Taille: 53cm (percentile 0,0%) Crâne: 38cm (percentile 1,8%)
Hématologie	Défaillance médullaire (hypocellularité) Thrombocytopenie Restauration spontanée de l'érythropoïèse (9mois)	Défaillance médullaire Défauts d'érythropoïèse, granulopoïèse et magécaryopoïèse Défauts de précurseurs érythroïdiens	Défaillance médullaire Anémie arégénérative Alymphocytose B Absence de précurseurs érythroïdes	Défaillance médullaire Anémie arégénérative Tricytopénie et lymphopénie B Défauts d'érythropoïèse, granulopoïèse et magécaryopoïèse	Défaillance médullaire Anémie arégénérative Tricytopénie et lymphopénie B Défauts d'érythropoïèse, granulopoïèse et magécaryopoïèse
Os			Atrésie des choanes	Asymétrie thoracique Humérus gauche et métacarpes courts Ostéopénie	Raccourcissement rhizomélique des bras Doigts courts
Peau				Peau sèche, démangeaisons, cheveux fins	Peau sèche, eczema, hypopigmentation du tronc
Visage	Dysmorphie			Trigonocéphalie, hypoplasie du plancher orbitaire, des os zygomatiques, cataracte bilatérale	hypoplasie du plancher orbitaire
Coeur					Cardiomégalie (dilatation du ventricule gauche)
Neurologie			Surdité bilatérale (absence de nerfs cochléovestibulaires) Microcéphalie	Retard neurodéveloppemental Réduction du volume cérébrale Microcéphalie	Retard neurodéveloppemental Réduction du volume cérébrale Microcéphalie

Tableau 01 : Phénotype clinique des patients MYSM1 décrits dans la littérature.

Chapitre 5 : [Régulation des télomères et défauts associés]

La stabilité du génome est cruciale pour la survie et la santé d'un organisme. Les télomères, situés aux extrémités des chromosomes linéaires, servent à assurer une réplication correcte du génome après chaque division cellulaire et protègent ces extrémités des voies de réparation (Palm et de Lange 2008). Ce sont des structures nucléoprotéiques essentielles pour la survie cellulaire et impliquées dans de nombreux processus physiologiques.

Le laboratoire DGSi, où ce travail de thèse a été réalisé, s'intéresse également à la caractérisation et la compréhension de pathologies associées à une dérégulation des télomères. Ce chapitre 5 sera donc centré sur une description du rôle des télomères et des pathologies associées à leur dysfonctionnement.

1) Les télomères : complexes nucléoprotéiques à l'extrémité des chromosomes linéaires

a) Généralités

Les télomères sont des structures nucléoprotéiques complexes situées à l'extrémité des chromosomes eucaryotes. Ces structures sont définies par une répétition de séquences TTAGGG chez les mammifères, liées par différents complexes protéiques (MEYNE, RATLIFF, et MoYzls 1989; de Lange et al. 1990; W. E. Wright et al. 1997; Agnel Sfeir et al. 2009). Une des principales fonctions des télomères est de permettre à la cellule de distinguer une terminaison chromosomique d'une CDB de l'ADN. Ils évitent ainsi l'activation inappropriée de la DDR et des voies NHEJ ou RH qui peuvent conduire à l'activation continue des checkpoints cellulaires ainsi qu'à la fusion ou la recombinaison de ces extrémités. La réplication unidirectionnelle des télomères et leur composition riche en bases G et en séquences répétées en font aussi des structures particulièrement instables pouvant se comporter comme des sites fragiles (Agnel Sfeir et al. 2009).

Enfin, les tailles des télomères chez l'homme et la souris sont différentes. La biologie des télomères est par conséquent parfois différente entre un modèle murin et l'Homme. La (ou les) fonction(s) de facteurs télomériques peuvent alors s'avérer mieux connue(s) chez la souris que chez l'homme dans certains cas, et les généralisations entre modèles murins et humains demandent parfois de la prudence.

i. Structure de l'ADN télomérique :

La terminaison des télomères est caractérisée par une extension d'ADN simple-brin sur le brin portant la séquence TTAGGG, et donc riche en bases G. Chez l'Homme, les télomères peuvent s'étendre de 2 à 14 kbp, l'extension 3' simple-brin représentant environ 200bp (Hockemeyer et al. 2005).

Cette extension 3' simple-brin permet la formation d'une structure d'ordre supérieur via son repliement et son insertion au sein de l'ADN télomérique double-brin. Cette structure ainsi formée est appelée T-loop pour boucle télomérique. Celle-ci peut se révéler imposante et mesurer plusieurs centaines de kilobases chez la souris (Griffith et al. 1999; Doksani et al. 2013; J. Nandakumar et Cech 2013). Son existence a été démontrée par microscopie électronique (Griffith et al. 1999) et microscopie à super résolution (Doksani et al. 2013; Van Ly et al. 2018).

La T-loop permet de protéger l'extension 3' simple brin en la dissimulant au sein de l'ADN télomérique double-brin, empêchant sa détection par les voies de réparation de l'ADN. Ce processus est essentiel afin d'éviter une activation des kinases ATM et ATR par une extrémité chromosomique que la cellule considérerait à tort comme une CDB (Zglinicki et al. 2005). La DDR peut être détectée aux télomères par la présence de TIF (telomere induced foci) (H. Takai, Smogorzewska, et de Lange 2003), c'est à dire un recrutement sous forme de foci (foyers) de facteurs tels 53BP1 ou MDC1 et la phosphorylation de H2AX aux télomères (H. Takai, Smogorzewska, et de Lange 2003).

Les quadruplex-G sont un autre type de structure pouvant être retrouvés au niveau des télomères. Cette structure est définie par l'alignement sur un même plan de quatre bases G. Ces quatre guanines interagissent via une liaison hydrogène et se stabilisent dans cette conformation. La formation de ces liaisons nécessite des conditions thermodynamiques particulières, et certaines protéines télomériques permettent de catalyser la formation ou désagrégation des quadruplex-G (Pedroso, Hayward, et Fletcher 2009; Q. Wang et al. 2011). Ces structures perturbent les

interactions protéiques avec l'ADN télomérique (J. Nandakumar et Cech 2013; Yanez et al. 2005), et peuvent être source de stress réplcatif (Rizzo et al. 2009).

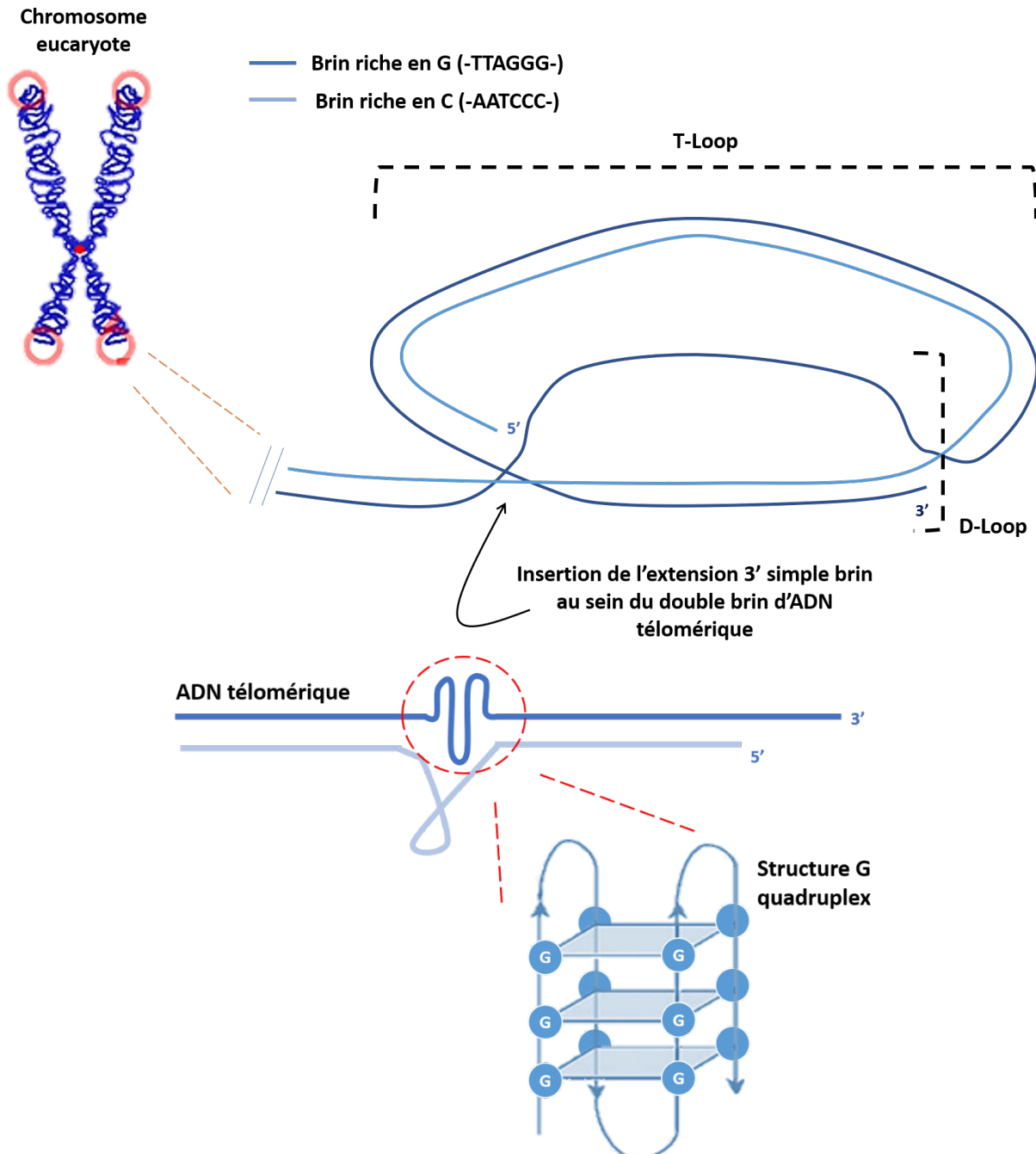


Schéma 17 : Structure de l'ADN télomérique et d'un quadruplexe G.

ii. Fonctions des télomères :

La fonction des télomères est finement régulée et dépend de leur taille ainsi que des facteurs qui leur sont associés. Leur conformation tridimensionnelle, comme la structure en T-loop ou une conformation G-quadruplex, participe à la protection des extrémités chromosomiques, assurant la stabilité du génome (Doksani et al. 2013; Bryan et al., s. d.). La structure chromatinienne des télomères joue également un rôle important dans leur maintenance et leur régulation (Galati, Micheli, et Cacchione 2013). Cette dernière contient des fragments d'ARN, contenant des répétitions de l'ADN télomériques. Ces fragments ARN sont appelés TERRA, et jouent un rôle important dans le maintien des télomères, l'organisation chromatinienne de ces derniers et la régulation de l'expression génique (Porro et al. 2014). Leur fonction sera abordée plus loin dans ce chapitre.

Des marques d'hétérochromatine situées sur H3K9 et H4K20 peuvent être observées au niveau des nucléosomes télomériques. Ces dernières sont très similaires aux marques présentes dans l'hétérochromatine constitutive (Blasco 2007). De ce fait, les télomères possèdent une conformation plus compacte, pouvant parfois influencer l'expression de gènes situés à proximité. En effet, grâce à un phénomène appelé TPE (Telomere Position Effect), les télomères peuvent éteindre l'expression de certains gènes (Blasco 2007; Baur 2001). L'effet de répression transcriptionnelle imputée aux télomères apparaît comme décroissant avec l'éloignement de la région génique concernée (Baur 2001; Stadler et al. 2013; Lou et al. 2009). Il faut noter que le locus du gène TERT est très proche d'une région télomérique, et que sa transcription est réprimée en présence de télomères longs (W. Kim et al. 2016). Ainsi, alors que l'activité télomérase est présente lors des premières étapes du développement, celle-ci est supprimée dans la plupart des tissus après la naissance, probablement pour éviter l'apparition de cancers précoces au sein de l'organisme. Le phénomène de TPE permettrait ainsi une auto-régulation de l'expression du gène *hTERT* et de l'activité télomérase.

b) Elongation des télomères

i. Télomères et division cellulaire :

La taille des télomères est un facteur permettant de mesurer le vieillissement cellulaire, ainsi qu'un mécanisme de répression tumorale essentiel (Jerry W Shay et Wright 2002). Puisque les télomères représentent les extrémités chromosomiques, la machinerie de réplication de l'ADN ne peut copier et dupliquer cette séquence dans sa totalité. Ce phénomène est appelé « problème de réplication des extrémités ». Les polymérases d'ADN nécessitant un fragment d'Okazaki pour la réplication du brin issu du système indirect (lagging), le brin néosynthétisé se retrouve réduit en taille après retrait du fragment d'Okazaki (Wellinger 2014). Ainsi, au cours des divisions cellulaires successives, les télomères se raccourcissent. En lien avec le vieillissement, un raccourcissement excessif des télomères peut être associé à un risque élevé de maladies cardiovasculaires, déficience hépatique, hypertension et/ou athérosclérose (Haycock et al. 2014; Willeit et al. 2010; Cawthon et al. 2003; Aubert et Lansdorp 2008).

Chez les eucaryotes, l'attrition des télomères peut être compensée par l'activité d'un complexe enzymatique spécifique, la télomérase. Cette dernière permet de rajouter des fragments répétés de séquence télomérique aux extrémités chromosomiques, s'opposant ainsi à l'effet des divisions cellulaires (Blackburn, Greider, et Szostak 2006). Si les télomères deviennent trop courts, ces derniers perdent leur protection et sont alors exposés à une activation de la DDR. Celle-ci s'accompagne alors de l'activation des checkpoints cellulaires et de l'augmentation des niveaux intracellulaires en p53. Les cellules entrent alors en sénescence puis en apoptose (Roake et Artandi 2017). Cependant, si cette barrière à la prolifération est outrepassée par un changement d'expression au niveau de facteurs antitumoraux ou oncogéniques, entraînant une perte d'activation des checkpoints cellulaires, les télomères continuent de se réduire menant vers un cycle de fusions/cassures chromosomiques augmentant l'instabilité génomique et le risque d'apparition d'un cancer (Jerry W. Shay, Wright, et Werbin 1991). Paradoxalement, et afin de restaurer une réplication soutenue, une réactivation du complexe télomérase est fréquemment observée au sein de cellules cancéreuses (J.W. Shay et Bacchetti 1997).

Enfin, la longueur des télomères est en partie héritée génétiquement (Noguera, Metcalfe, et Monaghan 2018), mais leur raccourcissement peut être accéléré par un grand nombre de facteurs génotoxiques endogènes et exogènes (X. Zhang et al. 2013; Grahame et Schlesinger 2012; Theall et

al. 2013; Hoxha et al. 2009; Pavanello et al. 2010). Certains facteurs environnementaux sont d'ailleurs considérés comme des sources potentielles de pathologies liées au vieillissement comme le diabète ou les maladies neurodégénératives (O. Uziel et al. 2007; Movérare-Skrtic et al. 2012; Hochstrasser, Marksteiner, et Humpel 2012).

ii. Le complexe télomérase

Le raccourcissement télomérique associé à la division cellulaire peut être contrebalancé par l'activité d'un complexe ribonucléoprotéique, le complexe télomérase. Celui-ci permet d'étendre de manière spécifique la répétition de séquences TTAGGG à l'extrémité des télomères (Greider et Blackburn 1985). Ce complexe est composé de deux sous-unités : TERT possédant une activité rétrotranscriptase et TERC représentant la matrice ARN servant de modèle pour l'activité de la sous-unité TERT (Blackburn 2005). Bien que l'activité télomérase soit suffisante *in vitro* pour une élongation des télomères, celle-ci nécessite *in vivo* la présence de nombreux autres facteurs. Par exemple, les cofacteurs DKC1 (ou Dyskerin), NHP2, NOP10, NAF1 et GAR1 sont des facteurs s'associant et stabilisant TERC, requis *in vivo* pour une activité du complexe télomérase (Cohen et al. 2007).

Cette activité est étroitement contrôlée au sein de tous les tissus de l'organisme. Elle est particulièrement présente lors de l'embryogénèse (Ozturk, Sozen, et Demir 2014). Elle est ensuite largement restreinte par extinction transcriptionnelle à partir de la naissance, à l'exception de certains types cellulaires hautement prolifératifs tels les cellules souches au niveau de la peau, des intestins, de la moelle osseuse et des gonades (Batista 2014; W. Kim et al. 2016). Il est important de préciser que la télomérase est activée dans de nombreux cancers, mais celle-ci n'est pas indispensable pour tous les types de cancers (Mocellin, Pooley, et Nitti 2013; Buseman, Wright, et Shay 2012; Heidenreich et al. 2014; Viceconte et al. 2017).

Comme mentionné, de nombreux types cellulaires chez l'adulte possèdent des taux très faibles voire inexistant de télomérase. *In vitro*, ces cellules subissent un raccourcissement télomérique progressif au fil de leur division. Lorsque les télomères atteignent une taille critique, ils activent un signal de dommages à l'ADN. Ce mécanisme entraîne une altération des fonctions cellulaires en impactant par exemple la transcription. Un autre effet de ce signal est l'entrée des cellules en phase de sénescence (Simm et Campisi 2014). Il est important de préciser que l'inactivation du complexe télomérase dans ces tissus sert de protection contre une accumulation

de dommages à l'ADN dans ces derniers. En effet, la réduction en taille des télomères peut découler de dommages à l'ADN localisés au niveau des séquences télomériques. Par exemple, l'ADN télomérique est plus sensible à l'effet des ROS que le reste du génome (Petersen, Saretzki, et Zglinicki 1998) et les complexes protéiques protégeant ces structures perturbent le fonctionnement des voies de réparation (Palm et de Lange 2008). Des cellules accumulant des dommages à l'ADN verront donc leur intégrité télomérique affectée, et seront dirigées vers une mort cellulaire programmée.

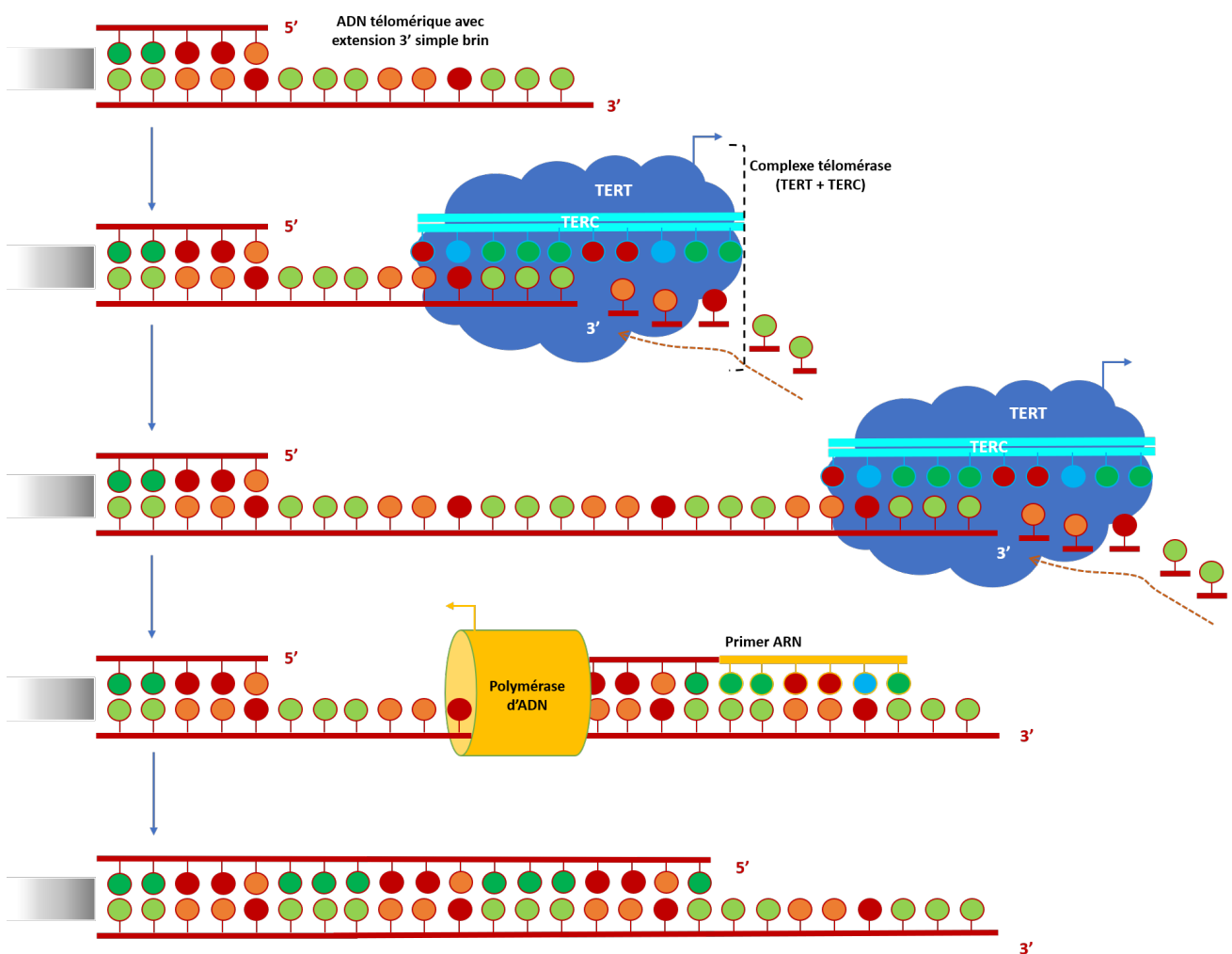


Schéma 18 : Illustration du mécanisme d'élongation des télomères via l'activité du complexe télomérase.

i. Mécanisme alternatif d'élongation :

Afin d'atteindre une immortalité répliquative, les cellules cancéreuses ont développé deux mécanismes de maintenance des télomères : une réactivation du complexe télomérase (qui concerne près de 90% des cancers) par la réexpression du gène codant la sous-unité TERT ou la mise en place du système ALT pour Alternative-Lenghtening of Telomeres (représentant environ 10% des cancers), basé sur la recombinaison entre séquences télomériques (N. Kim et al. 1994; Bryan et al., s. d.). Le fonctionnement et la régulation du complexe télomérase est étudié depuis trois décennies et ce dernier est devenu une cible thérapeutique pour le développement de traitements anti-cancéreux (Ruden et Puri 2013). A l'inverse, les mécanismes d'action du système ALT sont encore mal compris. Ce dernier fait appel à différentes voies de réparation couplées à un processus de recombinaison homologue (Draskovic et al. 2009). Cependant, il est important de préciser que le système ALT est un système complexe et qu'il ne se limite pas à une élongation des télomères par simple recombinaison. En effet, l'utilisation d'inhibiteurs d'ATR (et donc de la recombinaison homologue), en plus d'une chimiothérapie classique face à des tumeurs ALT positives, a démontré une grande hétérogénéité dans la réponse au traitement (Flynn et al. 2015; Deeg et al. 2016). Cette observation démontre la présence de voies de recombinaisons alternatives dans ce système.

Une accumulation de dommages et d'un stress répliquatif semble être une voie d'entrée vers le système ALT. En effet, les télomères sont des structures peu favorables à la réplication. La présence de séquences répétées rend l'apparition d'erreurs de réplication plus fréquentes (Berti et Vindigni 2016). Ces erreurs peuvent alors entraîner une perte d'affinité de protéines protectrices des télomères. Egalement, leur nature hétérochromatinienne et leur propension à former des structures secondaires sont des obstacles à la réplication (Agnel Sfeir et al. 2009). Parmi ces structures secondaires se trouve la T-loop mais aussi des structures hybrides ADN-ARN appelées R-loop (voir paragraphe sur les TERRA) ou les structures G-quadruplex (Tarsounas et Tijsterman 2013). Ces différentes conformations peuvent donc affecter la réplication. Un ralentissement ou blocage de ce processus peut entraîner un effondrement des fourches de réplication et l'activation de la DDR. Les télomères atteints trouvent alors une échappatoire à la sénescence via une élongation par recombinaison intra ou inter télomérique (Rezazadeh 2013; Saint-Léger et al. 2014; Clynes et al. 2015), grâce au système ALT.

Pour résumer, ce système permet un allongement des télomères via un enchevêtrement de voies de réparation. Et celui-ci ne fait pas partie des processus physiologiques normaux servant au

maintien des télomères, mais apparaît dans certains types de cancers lors d'un stress réplcatif ou d'un raccourcissement de ces derniers (Sobinoff et Pickett 2017).

c) Le complexe shelterin

Les télomères sont recouverts par de nombreux exemplaires du complexe shelterin (Palm et de Lange 2008). Ce complexe permet aux cellules de faire la distinction entre une CDB et les extrémités de leurs chromosomes. Alors que la télomérase permet de maintenir la longueur des télomères en rallongeant ces derniers par réplication de la séquence télomérique, le complexe shelterin évite leur dégradation en offrant une protection contre les voies de réparation et les nucléases. Il est en effet responsable de la formation et du maintien de la structure T-loop. Par ailleurs le complexe Shelterin régule le recrutement et l'activité de la télomérase aux télomères.

Les composants du complexe shelterin sont au nombre de six : TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1 et POT1. Chacune de ces protéines possède une ou des fonctions distinctes afin d'assurer la stabilité des télomères.

i. TRF1 :

Telomeric repeat binding factor 1 (TRF1) est impliqué dans la liaison du complexe shelterin avec la séquence d'ADN télomérique TTAGGG (Wieczór et Czub 2017). TRF1 possède des domaines spécifiques TRFH, qui lui permettent de former une structure homodimérique TRF1-TRF1, ainsi qu'un domaine SANT permettant la liaison à la séquence télomérique (Choi et al. 2011). TRF1 joue un rôle important dans l'assemblage du complexe shelterin en s'associant à TRF2 via TIN2 (Kalathiya, Padariya, et Baginski 2017) et régule de façon négative la taille des télomères en empêchant l'activité de la télomérase (A. Smogorzewska et al. 2000). Il possède aussi un rôle face aux voies de réparation de l'ADN. En effet, une activation d'ATM au niveau des télomères induit une phosphorylation de TRF1 et son détachement de l'ADN télomérique (McKerlie, Lin, et Zhu 2012; Y. Wu, Xiao, et Zhu 2007). Ce détachement entraîne alors une activation de Ku70/80 et donc de la voie NHEJ, au niveau des télomères (A. Sfeir et de Lange 2012).

ii. TRF2 :

TRF2, à l'image de TRF1, permet de se lier à la séquence d'ADN télomérique. Cependant, alors que TRF1 ne peut se lier qu'à l'ADN télomérique double-brin, TRF2 peut aussi se lier à l'ADN

télomérique simple-brin (Arat et Griffith 2012; Janoušková et al. 2015). Ce facteur est impliqué dans la protection des télomères et leur maintenance, en empêchant une fusion des extrémités chromosomiques. En effet, une expression d'une forme altérée de TRF2 a été associée avec un arrêt de la prolifération cellulaire, une réduction de la taille des télomères et une entrée des cellules en sénescence (Luo et al. 2015).

TRF2 joue un rôle important dans la formation de la T-loop, protégeant ainsi les télomères d'une dégradation et d'une reconnaissance par les voies de réparation. Il permet de recruter Apollo, une exonucléase à activité 5'-3', qui génère par résection l'extension 3' simple-brin nécessaire à la formation de la T-loop (de Lange 2005; Lu et al. 2013). Il permet aussi le recrutement de RAP1, un autre membre du complexe shelterin qui protège les télomères d'une réparation par la voie RH ou NHEJ (Sarthy et al. 2009; Rai et al. 2016). TRF2 est capable d'interagir avec de nombreux facteurs principalement impliqués dans la réparation de l'ADN. Un grand nombre d'entre eux ont été trouvés mutés dans des syndromes impliquant une instabilité chromosomique associés à un vieillissement prématuré et des télomères courts. Parmi ces facteurs se trouvent WRN, BLM, ERCC1/XPF, le complexe MRN, PARP1 & 2, et enfin ATM. Par exemple, une capture d'ATM par TRF2 empêche l'action d'ATM au niveau des télomères, inhibant ainsi la DDR (Karlseder et al. 2004).

TRF2 est donc un facteur majeur dans l'homéostasie des télomères et se retrouve impliqué dans plusieurs pathologies. Un niveau élevé de TRF2 a été observé dans de nombreux cancers chez l'Homme (Ozden et al, 2014 ; Dong et al, 2010 ; Diehl et al, 2011). Et dans des modèles murins, une surexpression de TRF2 a entraîné une réduction rapide de la taille des télomères malgré une activité normale de la télomérase (Jill et al, 2007).

iii. TIN2 et RAP1 :

TIN2 joue un rôle central dans le complexe shelterin en liant l'hétérodimère TPP1-POT1 aux autres composants du complexe. Il stabilise également TRF1 et TRF2 (Lei, Podell, et Cech 2004; Ye et al. 2004; S. Kim et al. 2004). Une délétion de TIN2 mène à un phénotype similaire à une perte de POT1 (Lih-Yow Chen et al. 2012) avec une perte de protection des télomères chez la souris.

RAP1 protège également les télomères d'une activation de la DDR (Dewar et Lydall 2012). Il forme un complexe avec TRF2 nécessaire à l'attachement de celui-ci aux télomères. RAP1 n'est pas essentiel pour le recouvrement des télomères par le complexe shelterin mais protègent ces derniers des voies de réparation par recombinaison (de Lange 2005).

iv. POT1 et TPP1 :

POT1 se lie à l'extension 3'simple-brin de l'extrémité télomérique (Lei, Podell, et Cech 2004) et stabilise la T-loop. Il permet également d'inhiber l'activation d'ATR aux télomères (Denchi et de Lange 2007; Zimmermann et al. 2014). Dans un modèle murin, possédant deux versions de POT1, une délétion de POT1a mène à une létalité embryonnaire. Une délétion de POT1b en revanche est viable mais démontre un phénotype pouvant être associé à la dyskératose congénitale (He et al. 2009), une pathologie qui sera abordée dans la partie 2 de ce chapitre.

TPP1 sert d'intermédiaire entre TIN2 et POT1 (K. K. Takai et al. 2011; Frescas et de Lange 2014). Il est responsable de la stabilité du complexe shelterin et une altération de sa fonction s'accompagne d'une activation de la DDR aux télomères et d'une sénescence cellulaire (L.-Y. Chen, Liu, et Songyang 2007; Rai et al. 2010). En effet, une déplétion de TPP1 entraîne une diminution du niveau de POT1 nucléaire (L.-Y. Chen, Liu, et Songyang 2007) et un défaut de TPP1 a été décrit comme menant à une déprotection des télomères ainsi que leur réduction en taille, consistante avec une perte de POT1 (Hockemeyer et al. 2007; Xin et al. 2007; Bisht et al. 2016).

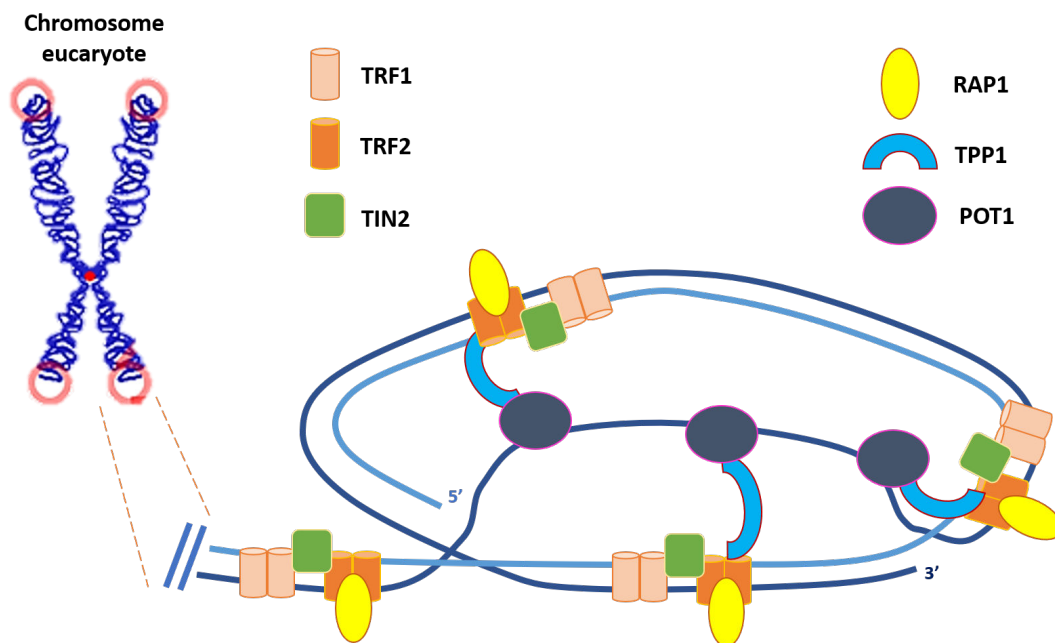


Schéma 19 : Représentation schématique du complexe Shelterin au niveau d'une extrémité télomérique

d) ARN télomériques ou TERRAs

Les télomères peuvent aussi être régulés par des fragments d'ARN télomériques appelés TERRA (Azzalin et al. 2007; Diman et Decottignies 2018).

Les ARN télomériques ou TERRA (telomeric repeat-containing RNA) sont transcrits à partir de multiples loci subtélomériques, proches des extrémités chromosomiques. Ils se composent d'une répétition de séquences UUAGGG, et leur taille peut varier de 100 bases à 9 kilobases chez les mammifères (Azzalin et al. 2007). Les TERRAs forment des structures G-quadruplex in vitro et in vivo (Martadinata et al. 2011; Y. Xu et al. 2010; Yan Xu et Komiyama 2012). Ils sont principalement transcrits par l'ARN polymérase II (RNAPol II) et cette transcription, favorisée par TRF1, est régulée par l'hétérochromatine télomérique (Schoeftner et Blasco 2008).

Les TERRA participent à la régulation de nombreux processus comme l'activité du complexe télomérase (Ng et al. 2009; Redon, Reichenbach, et Lingner 2010), la formation de l'hétérochromatine télomérique (Z. Deng et al. 2009) ou le développement et la différenciation cellulaire (Schoeftner et Blasco 2008; Marion et al. 2009; Sagie et al. 2014).

Un dysfonctionnement de l'expression des TERRAs a été relevé dans certaines pathologies démontrant une immunodéficiences, une instabilité chromosomique et/ou des anomalies faciales (Z. Deng, Campbell, et Lieberman 2010). En effet, une corrélation a été observée pour la première fois en 2008, entre la longueur des télomères et celle des TERRA, après étude d'un patient souffrant d'un syndrome ICF (Immunodeficiency, Centromeric instability, Facial anomalies). Une surexpression ectopique de la télomérase dans les fibroblastes de ce patient a démontré un allongement des télomères accompagné d'une augmentation de taille des TERRA (Yehezkel et al. 2008). Cette observation a ensuite été confirmée dans d'autres lignées cellulaires humaines, après surexpression de la télomérase dans ces dernières (Arnoult, Van Beneden, et Decottignies 2012; Van Beneden, Arnoult, et Decottignies 2013).

Les TERRA sont aussi surexprimés dans certains cas de tumeurs (Deng et al, 2012) où ils peuvent agir comme régulateurs de la télomérase (Cusanelli, Romero, et Chartrand 2013). Ils peuvent également s'associer par complémentarité de séquence à l'ADN télomérique, formant des structures ADN-ARN hybrides appelées R-loops (Arora et al. 2014; T.-Y. Yu, Kao, et Lin 2014). Ces R-loops favorisent la formation de foyer de recombinaison et pourraient jouer un rôle important dans le développement de cancers par la voie ALT (Arora et al. 2014).

Il est important de préciser que les TERRAs participent à la régulation des télomères via des mécanismes qui semblent parfois s'opposer. Ils peuvent inhiber l'activité du complexe télomérase ou promouvoir une résection de l'ADN télomérique via EXO1 et ainsi favoriser le raccourcissement des télomères (Balk et al. 2014). Cependant, ils peuvent également favoriser l'hétérochromatinisation de l'ADN télomérique et donc la stabilisation des télomères (Arnoult, Van Beneden, et Decottignies 2012). En effet, un défaut de marqueurs hétérochromatiniens aux télomères s'associe avec une réduction en taille des TERRA (Benetti, García-Cao, et Blasco 2007). Enfin, les TERRAs protègent aussi les télomères contre une activation de la DDR et pourraient être impliqués dans la régulation de l'expression génique via le phénomène TDE (Chu, Froberg, et al. 2017; Chu, Cifuentes-Rojas, et al. 2017).

2) Pathologies associées aux dysfonctionnements télomériques ou téloméropathies

Les pathologies génétiquement héritées (à l'exception des mutations de TIN2 qui sont majoritairement des mutations de novo), affectant les télomères ou étant associées à des télomères courts et un vieillissement précoce, sont regroupées sous le terme de « téloméropathies » ou TBD (Telomere Biology Disorders). Ces désordres génétiques partagent des similarités au niveau des mécanismes moléculaires impliqués mais démontrent une grande variabilité de phénotypes. Cette hétérogénéité phénotypique s'explique alors par un recouvrement ou une pénétrance incomplète des voies génétiques impliquées (M. Armanios et Blackburn 2012). Les TBD sont caractérisées par une déficience de la machinerie de maintenance et/ou de protection des télomères. Il est important de préciser que certaines pathologies peuvent partager des symptômes avec un TBD sans impliquer de facteurs génétiques associés de manière directe à la maintenance des télomères (défauts d'hélicase RECQ, progeria, ribosomopathies (SBDS), ou Ataxia Telangiectasie) (Holohan, Wright, et Shay 2014).

a) Phénotypes cliniques des TBD primaires

Les TBD sont un ensemble complexe de pathologies associée à une atteinte des télomères. Le tableau clinique de ces désordres est étendu, allant de pathologies multi systémiques

extrêmement sévères comme le syndrome de Høyeraal-Hreidarsson (HH) à des pathologies impliquant un seul organe comme la fibrose pulmonaire ou l'anémie aplasique. Les TBD peuvent donc être considérés comme un éventail de désordres reliés par un aspect biologique commun : la dérégulation des télomères (S. A. Savage 2012).

i. Dyskératose congénitale (DC) :

Les premiers symptômes décrits de la DC, dans les années 1900, ont été une dystrophie des ongles, une hyperpigmentation réticulée de la peau au niveau du cou et de la poitrine, et une leucoplasie des muqueuses. Cette triade, permettant souvent d'établir un diagnostic, n'est pas complète chez tous les patients, et cela à cause d'une variation d'expression ou d'une pénétrance incomplète du gène muté. Le désordre le plus courant causé par cette pathologie et responsable de la plupart des décès de patients est une insuffisance médullaire progressive causant un déficit immunitaire (Townesley, Dumitriu, et Young 2014; Alter et al. 2015; Kirwan et Dokal 2007).

Les autres désordres causés par cette pathologie peuvent être une sténose de l'œsophage ou de l'urètre chez les hommes, nécessitant parfois une dilatation par voie chirurgicale ; une fibrose pulmonaire ; ou des désordres hépatiques non infectieux. Des problèmes osseux ont également été reportés dans certains cas, comme une nécrose avasculaire de la hanche ou des épaules ; ou une ostéopénie, augmentant les risques de fracture. Des malformations dentaires font également partie de la liste des symptômes pouvant être ajoutés à la DC (Atkinson et al. 2008), ainsi que des problèmes oculaires comme une absence de canal lacrymal dans une faible portion des patients (Tsilou et al. 2010).

Un autre aspect de cette pathologie est la présence de troubles neuropsychiatriques dans certains cas, avec une prévalence supérieure à celle retrouvée dans une population « normale » (Rackley et al. 2012). Ces désordres peuvent être d'ordre psychiatrique comme des psychoses ou de l'anxiété, ou d'ordre cognitif comme un déficit de l'attention, un retard mental, des difficultés d'apprentissage ou des troubles de la personnalité.

Enfin, il est important de noter que les patients souffrant de DC possèdent une prédisposition élevée aux cancers (Alter et al. 2009). En effet, le risque d'apparition d'un cancer chez ces patients est de 40% avant l'âge de 50 ans.

ii. Syndrome de Høyeraal-Hreidarsson (SHH) :

Ce syndrome est une forme sévère de DC, présentant un retard de croissance intra-utérin, une microcéphalie, une atrophie du cervelet, une insuffisance médullaire sévère et précoce et des défauts immunitaires (Høyeraal, Lamvik, et Moe 1970; Hreidarsson et al. 1988). DC et SHH partagent de nombreux symptômes et le lien entre les deux pathologies a été fait lorsque des mutations du gène *DKC1* ont été observées dans les deux groupes de patients (Lim et al. 2014; Olivieri et al. 2017; Ratnasamy et al. 2018). A présent, des mutations portées sur les gènes *TINF2*, *TERT*, *TERC*, *TPP1*, *PARN* ou *RTEL1* sont également associées au SHH (Amanda J. Walne et al. 2007; A. J. Walne et al. 2008; S. A. Savage et al. 2008; Vulliamy et al. 2008; Le Guen et al. 2013; Glousker et al. 2015).

iii. Syndrome de Revesz (SR) :

Les patients souffrant du SR ont une anémie aplasique associée à une rétinopathie. Ils peuvent aussi présenter un retard de croissance intra-utérin et un retard de développement, des calcifications intra craniennes, des cheveux fins et rares ainsi qu'une dystrophie des ongles (Gupta et al. 2017). Encore une fois, certains de ces symptômes sont communs à la DC. Ces deux pathologies possèdent en effet une étiologie commune. Les patients SR sont caractérisés par des télomères courts et une forte proportion d'entre eux portent une mutation du gène *TINF2* (S. A. Savage et al. 2008; Gupta et al. 2017). Le diagnostic de ce syndrome nécessite l'identification d'une rétinopathie exsudative bilatérale, qui devra être différenciée d'une rétinopathie proliférative observée chez certains patients souffrant de DC (Tsilou et al. 2010).

iv. Syndrome Coats plus (SC+) :

Le SC+ se caractérise par une rétinopathie exsudative bilatérale, une télangiectasie de la rétine, un retard de croissance intra-utérin, des calcifications intra craniennes et des anomalies osseuses avec difficultés de réparation des fractures, ainsi que des problèmes de vascularisation du système gastro-intestinal. Certains patients ont également démontré d'autres symptômes comme une dystrophie des ongles, des cheveux épars et grisonnants et une anémie. Ce syndrome est plus sévère qu'un SR et est caractérisé par une morbidité précoce causée par des hémorragies digestives sévères (S. A. Savage 2012; Anderson et al. 2012; Troumani et al. 2016). Des mutations du gène *CTC1* ont été identifiées chez la quasi-totalité des patients souffrant du SC (S. A. Savage 2014; Anderson et al. 2012). Récemment une mutation du gène *POT1* a aussi été associée au SC+

sans anomalies de taille des télomères (H. Takai et al. 2016). Et aussi STN1 (Jexpmed ; Simon AJ et al. 2016)

v. Fibrose pulmonaire (FP) :

La fibrose pulmonaire est caractérisée par une insuffisance respiratoire progressive très sévère. Le décès intervient 2 à 3 ans après le diagnostic. Environ 5 à 10% des patients souffrant d'une fibrose pulmonaire démontrent une haploinsuffisance des gènes *TERC* ou *TERT*, créant ainsi un lien avec les TBD (M. Y. Armanios et al. 2007; Tsakiri et al. 2007; Borie et al. 2016). Les téloméropathies, comme la DC et la fibrose pulmonaire idiopathique familiale, sont des désordres génétiquement hérités, se révélant majoritairement à un âge précoce (Holohan, Wright, et Shay 2014). Les patients ayant une FP associé à des mutations de gènes télomériques présentent des télomères anormalement courts. Récemment, des mutations hétérozygotes dans les gènes *PARN*, *NAF1* et *RTEL1* ont été associées à des fibroses pulmonaires (Stuart et al. 2015; Stanley et al. 2016).

b) Causes génétiques des Téloméropathies (TBD)

Il existe plus d'une dizaine de gènes associés aux TBD. La majorité des mutations affectant ces gènes se traduisent par un raccourcissement prématuré des télomères, sauf quelques cas présentant un dysfonctionnement télomérique sans modifications de leur taille. Des mutations de gènes associés à la maintenance des télomères ou à l'activité télomérase comme *TERT*, *TERC*, *PARN*, *RTEL1*, *TIN2*, *DKC1*, *NHP2*, *NAF1*, *NOP10*, *GAR1* ou *CTC1*, démontrent la complexité de la biologie des télomères et leur implication dans de nombreux processus physiologiques (Holohan, Wright, et Shay 2014).

i. *TERT*, *TERC* et *DKC1*, *NHP2*, *NOP10*, *NAF1* :

Les mutations affectant les gènes *TERT*, *TERC* ou *DKC1* sont les causes principales d'une modification d'activité du complexe télomérase (Podlevsky et al. 2007). Les mutations situées sur les gènes *TERT* et *TERC* déstabilisent de manière directe l'activité enzymatique du complexe. Les facteurs *DKC1*, *NHP2*, *NAF1* et *NOP10* sont requis pour la stabilité du complexe télomérase. Des mutations situées sur les gènes *DKC1*, *NOP10*, *NAF1* ou *NHP2* affectent l'assemblage du complexe

téломérase (Egan et Collins 2010) et par extension, son activité (Trahan et Dragon 2009; Trahan, Martel, et Dragon 2010).

ii. *WRAP53* et *TPP1* :

TCAB1, codé par le gène *WRAP53*, est important pour la localisation du complexe téломérase aux téломères et l'activité de la téломérase (L. Chen et al. 2018). Une déplétion de ce dernier s'accompagne d'une relocalisation du complexe téломérase vers les nucléoles et d'un raccourcissement des téломères (Venteicher et Artandi 2009; Zhong et al. 2011). Des mutations hétérozygotes du gène *WRAP53*, ont été identifiées chez des patients souffrant d'un TBD majeure, la dyskératose congénitale (DC). Les cellules de ces patients démontrent alors une réduction en taille des téломères malgré une activité téломérase normale (Zhong et al. 2011).

En plus de *TCAB1*, *TPP1* est un autre facteur nécessaire à la localisation du complexe téломérase aux téломères (Y. Guo et al. 2014). Des mutations de *TPP1* se retrouvent donc associées à la DC ou au syndrome Høyerhaal-Hreidarsson (Y. Guo et al. 2014; Kocak et al. 2014; Glousker et al. 2015).

La maintenance des téломères nécessite un maintien du double-brin d'ADN télomérique ainsi qu'un maintien de sa réplication. Des mutations de gènes assurant ces fonctions ont été identifiés chez des patients souffrant de TBD (Anderson et al. 2012; Polvi et al. 2012).

iii. *CTC1* et *RTEL1* :

Le premier gène de cette catégorie est *CTC1*, codant pour le facteur *CTC1* membre du complexe CST. Le complexe CST permet un redémarrage de la fourche de réplication après blocage, et favorise donc la synthèse correcte du brin riche en C (Gu et al. 2012; F. Wang et al. 2012). Des mutations de *CTC1* ont été identifiées chez des patients souffrant de TBD comme le syndrome Coats plus (C+) (Anderson et al. 2012; Polvi et al. 2012) ou la DC (Keller et al. 2012). Il faut noter qu'une mutation en *CTC1* ne corrèle pas obligatoirement avec un raccourcissement des téломères (Anderson et al. 2012; Polvi et al. 2012). Des mutations de *POT1* ont également été associées à un Coats plus sans raccourcissement des téломères (H. Takai et al. 2016).

Un autre gène impliqué dans la réplication de l'ADN télomérique est *RTEL1*. Il code le facteur *RTEL1*, une hélicase d'ADN agissant de manière non-exclusive aux téломères. *RTEL1* permet de défaire la D-loop (Barber et al. 2008), et permet une résolution de la T-loop (Vannier et al. 2012; Le

Guen et al. 2013). *RTEL1* est recruté en phase S par TRF2 et permet d'éviter une excision du double brin d'ADN télomérique (Sarek et al. 2015). Il intervient aussi de manière dépendante de PCNA, dans la résolution des structures G-quadruplex, favorisant ainsi la réplication de l'ADN télomérique (Vannier et al. 2012; Le Guen et al. 2013; Sarek et al. 2015). Des mutations du gène *RTEL1* ont été trouvées chez des patients souffrant du SHH ou de fibrose pulmonaire familiale (FPF) (Le Guen et al. 2013; Kannengiesser et al. 2015). Les mutations de *RTEL1*, transmises de manière autosomique récessive et menant à un SHH, sont associées à des télomères très courts (Le Guen et al. 2013).

iv. *TINF2* :

Le gène *TINF2*, codant le facteur télomérique TIN2, est un autre exemple de gènes dont les mutations sont associées à un raccourcissement important des télomères. Les mutations observées sur ce gène sont hétérozygotes et rarement héritées. Les patients souffrant de ces mutations développent très tôt un SHH ou un SR (A. J. Walne et al. 2008; Sasa et al. 2012; Kocak et al. 2014).

v. *PARN* :

Un gène récemment identifié comme étant impliqué avec des cas de TBD est *PARN*. Celui-ci code la protéine PARN, une exoribonucléase avec une activité spécifique envers les chaînes poly(A) (Virtanen et al. 2013). Cette activité serait alors nécessaire pour la maturation de l'ARN TERC utilisé par le complexe télomérase (D. H. Moon et al. 2015). Mais la sévérité du phénotype des patients déficients en PARN semble révéler des défauts plus étendus qu'une unique anomalie de l'activité de la télomérase. Des mutations hétérozygotes de *PARN* ont été décrites dans des cas de FPF (Stuart et al. 2015) et des variants bialléliques ont été associés au développement de SHH (Tummala et al. 2015).

c) Laminopathies : un exemple de TBD secondaire

La lamina, charpente de l'enveloppe nucléaire, possède de nombreuses interactions avec les télomères (A. M. Wood et al. 2014; Burla, La Torre, et Saggio 2016; Das et al. 2013; Cao et al. 2011). Les lamines interagissent directement avec l'ADN et les histones et contribuent ainsi à une organisation de la structure chromatinienne au sein du noyau (Robin et Magdinier 2016). En effet, une altération des lamines affectent l'architecture nucléaire, l'organisation du génome et donc

l'expression de différents gènes. Ces dernières sont donc associées à plusieurs pathologies chez l'Homme (Dorado et Andrés 2017). Les lamines nucléaires comprennent les lamines A, B et C (Gruenbaum et Medalia 2015). La progeria d'Hutchinson-Gilford (HGPS), qui est un syndrome de vieillissement prématuré, est causé par une mutation du gène *LMNA* menant à un splicing alternatif de ce dernier et l'expression d'une protéine tronquée et toxique appelée progérine (Finley 2014). Une accumulation de cette protéine perturbe l'enveloppe nucléaire et l'organisation chromatinienne du génome. Il est intéressant de noter que l'HGPS est caractérisé par un raccourcissement prématuré des télomères (Musich et Zou 2011; Ullrich et Gordon 2015) menant à l'activation de la DDR au niveau de ces derniers. De façon paradoxale, un raccourcissement télomérique sans présence d'HGPS mène aussi à l'apparition de progérine (Cao et al. 2011), établissant alors un lien entre lamines et télomères que le vieillissement soit pathologique ou non.

Il a été démontré que les télomères pouvaient former des structures tridimensionnelles en forme de boucle ou « loop » et interagir avec des sites génomiques portant la séquence TTAGGG (Bolzán 2017). Ces sites sont appelés « sites télomériques interstitiels » (STI) et forment des « boucles télomériques interstitielles » avec les télomères grâce à l'interaction entre TRF2 et la lamine A/C (A. M. Wood et al. 2014). De façon intéressante, la progérine qui est une forme tronquée de la lamine A/C ne possède aucune affinité pour TRF2. Cette perte d'interaction entrainerait donc une modification des interactions entre les télomères et le génome et pourrait expliquer la perte d'homéostasie des télomères observée dans le HGPS (A. M. Wood et al. 2014). Egalement une accumulation de stress cellulaire dû à une déstabilisation de la charpente nucléaire pourrait perturber la stabilité des télomères (Makhija, Jokhun, et Shivashankar 2016).

Deuxième partie: [Résultats]

Axes de recherche

Le laboratoire Dynamique du Génome et Système Immunitaire (DGSi) s'intéresse à l'étude de pathologies caractérisées par une déficience immunitaire associée à des défauts développementaux (retard de croissance, microcéphalie, ...) et à l'apparition, dans certains cas, de lymphomes ou leucémies. Ces phénotypes peuvent être caractéristiques de maladies liées à un défaut des voies de réparation de l'ADN (Anémie de Fanconi ou défauts en LIG4, Cernunnos, ATM, ...) ou de régulation des télomères (Dyskératose Congénitale, ...).

Le laboratoire a pour ambition de mieux caractériser les phénotypes cliniques de ces patients et d'identifier des facteurs génétiques impliqués. Une partie importante du travail est ensuite définie par l'étude des mécanismes moléculaires impactés dans ces pathologies, et par le développement de modèles d'études (modèles cellulaires ou animaux, essentiellement murins) de ces dernières.

L'étude de pathologies au sens large est une étape extrêmement importante vers la compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires physiologiques chez l'Homme (et dans d'autres espèces animales). C'est une étape nécessaire afin de pouvoir développer des outils diagnostiques plus performants, de pouvoir proposer un protocole de soin mieux adapté et dans l'idéal, de pouvoir développer des solutions de traitements plus efficaces.

Durant mon travail de thèse, je me suis ainsi concentré sur deux projets distincts :

- La poursuite des travaux initiés par Le Guen et al, publiés en 2015 et l'étude d'une implication potentielle de la déubiquitinase d'histone MYSM1 dans la réponse aux dommages de l'ADN.
- L'étude phénotypique d'un patient souffrant d'une immunodéficience associée à des symptômes de vieillissement accéléré et de la potentielle implication du facteur ZNF699 dans cette pathologie.

PARTIE II.1 : [Implication de MYSM1 dans la DDR]

La première partie du travail présentée dans cette thèse s'inscrit dans la continuité des travaux réalisés au laboratoire sur l'étude d'un patient souffrant à la naissance d'un retard de croissance avec microcéphalie, d'une anémie arégénérative et d'une alymphocytose B (absence complète de lymphocytes B). Ces travaux, publiés en 2015 par Le Guen et al, ont permis de démontrer un lien entre le phénotype clinique du patient M et la protéine MYSM1.

Ces travaux ont permis d'identifier, chez le patient M, une mutation faux-sens homozygote située sur le gène *MYSM1* (ou *KIAA1915/ 2A-DUB*) au niveau de l'exon 16 (c.1967A>G). Cette mutation mène à la substitution d'un acide aminé (p.H656R) au niveau du domaine MPN+/JAMM portant l'activité déubiquitineuse de MYSM1. Une réversion génétique spontanée au niveau de la mutation c.1967A>G dans les cellules souches hématopoïétiques du patient M, a permis d'établir un lien entre les symptômes immunohématologiques de ce dernier et le défaut en MYSM1.

Cependant, les défauts développementaux, microcéphalie et déficit immunitaire observés chez le patient évoquaient un potentiel défaut de la réparation de l'ADN (Introduction - Chapitre 2).

Ainsi, l'objectif de cette première partie de thèse, basée sur les travaux publiés par Le Guen et al (2015), a été d'étudier une possible implication de MYSM1 au sein des voies de réparation de l'ADN.



Immune deficiencies, infection, and systemic immune disorders

An *in vivo* genetic reversion highlights the crucial role of Myb-Like, SWIRM, and MPN domains 1 (MYSM1) in human hematopoiesis and lymphocyte differentiation

Tangui Le Guen PhD ^{a, b}, Fabien Touzot MD, PhD ^{a, b, c}, Isabelle André-Schmutz PhD ^{b, c}, Chantal Lagresle-Peyrou PhD ^{b, d}, Benoit France MSc ^{a, b}, Laetitia Kermasson ^{a, b}, Nathalie Lambert ^{a, e}, Capucine Picard MD, PhD ^{b, c, e}, Patrick Nitschke PhD ^f, Wassila Carpentier PhD ^g, Christine Bole-Feysot PhD ^h, Annick Lim PhD ⁱ, Marina Cavazzana MD, PhD ^{b, e}, Isabelle Callebaut PhD ^j, Jean Soulier MD, PhD ^k, Nada Jabado MD, PhD ^l, Alain Fischer MD, PhD ^{b, c}, Jean-Pierre de Villartay PhD ^{a, b}, Patrick Revy PhD ^{a, b} ✉

^a INSERM UMR 1163, Laboratory of Genome Dynamics in the Immune System, Paris, France

^b Paris Descartes–Sorbonne Paris Cité University, Imagine Institute, Paris, France

^c AP-HP, Hôpital Necker Enfants-Malades, Service d'Immunologie et d'Hématologie Pédiatrique, Paris, France

^d CIC-BT 502 INSERM, Paris, France, and Département de Biothérapie, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

^e Study Center of Primary Immunodeficiencies, AP-HP, Necker Hospital, Paris, France

^f Service de Bioinformatique, Faculté de Médecine Pitié Salpêtrière, Paris, France

^g Plateforme Post-Génomique P3S, Faculté de Médecine Pitié Salpêtrière, Paris, France

^h Plateforme de génomique, Institut Imagine, Paris, France

ⁱ Institut Pasteur, Groupe Immunoscope, Département d'Immunologie, Paris, France

^j CNRS UMR7590, Sorbonne Universités, Université Pierre et Marie Curie-Paris6–MNHN–IRD–IUC, Paris, France

^k INSERM U944, Institut universitaire d'Hématologie, Université Denis Diderot, Paris, France

^l McGill University and the Genome Quebec Innovation Centre, Montreal, Quebec, Canada

Received 24 February 2015, Revised 28 May 2015, Accepted 8 June 2015, Available online 26 July 2015.

MYSM1, H656R et activité du domaine déubiquitinase de MYSM1

Le patient M est issu d'une famille consanguine (Figure 1A) et porte une mutation homozygote p.H656R affectant la protéine MYSM1. Cette mutation est portée de manière homozygote dans les fibroblastes du patient M et de manière hétérozygote par ses parents (Figure 1B). Les travaux réalisés précédemment au laboratoire ont démontré que la forme mutée de MYSM1 ou H656R, exprimée chez le patient M, menait à une déstabilisation de la protéine (Le Guen et al. 2015). La mutation p.H656R du patient M se situe dans le domaine MPN+/JAMM de MYSM1. Ce domaine porte l'activité déubiquitinase de la protéine et est structuré autour de trois acides aminés possédant une interaction avec un ion zinc (Zn^{2+}). Dans le cas du patient M, la mutation p.H656R affecte un de ces acides aminés (Figure 1 C & D). Le niveau d'H2AK119ub a été observé comme étant plus élevé dans les fibroblastes primaires du patient M comparativement à un contrôle (Le Guen et al., 2015). Afin de déterminer quel pouvait être l'impact de la mutation p.H656R sur l'activité déubiquitinase de MYSM1 et de comprendre si l'augmentation des niveaux d'H2AK119ub dans ces cellules était due à une perte d'activité en plus de la déstabilisation de MYSM1, des tests d'activité enzymatique in vitro ont été réalisés en collaboration avec le Dr Aude Echalié (University of Gloucester, UK).

Différentes formes du domaine MPN+/JAMM de MYSM1 (WT ou mutée), associées à un tag GST, ont été produites. L'activité déubiquitinase de ces domaines a été testée sur des substrats monoubiquitinés. Les résultats de ces expériences ont démontré la capacité du domaine MPN+/JAMM de MYSM1 à déubiquitiner des substrats à l'image du contrôle positif UCHL2/BAP1, une autre histone H2A déubiquitinase. Ces tests ont également montré une perte totale de l'activité déubiquitinase du domaine MPN+/JAMM de MYSM1 portant la mutation p.H656R. La mutation p.H656R semble ainsi supprimer l'activité déubiquitinase de MYSM1 (Figure 1E).

Par souci de clarté, le terme « H656R » sera utilisé par la suite et fera référence à la protéine MYSM1, portant la mutation p.H656R.

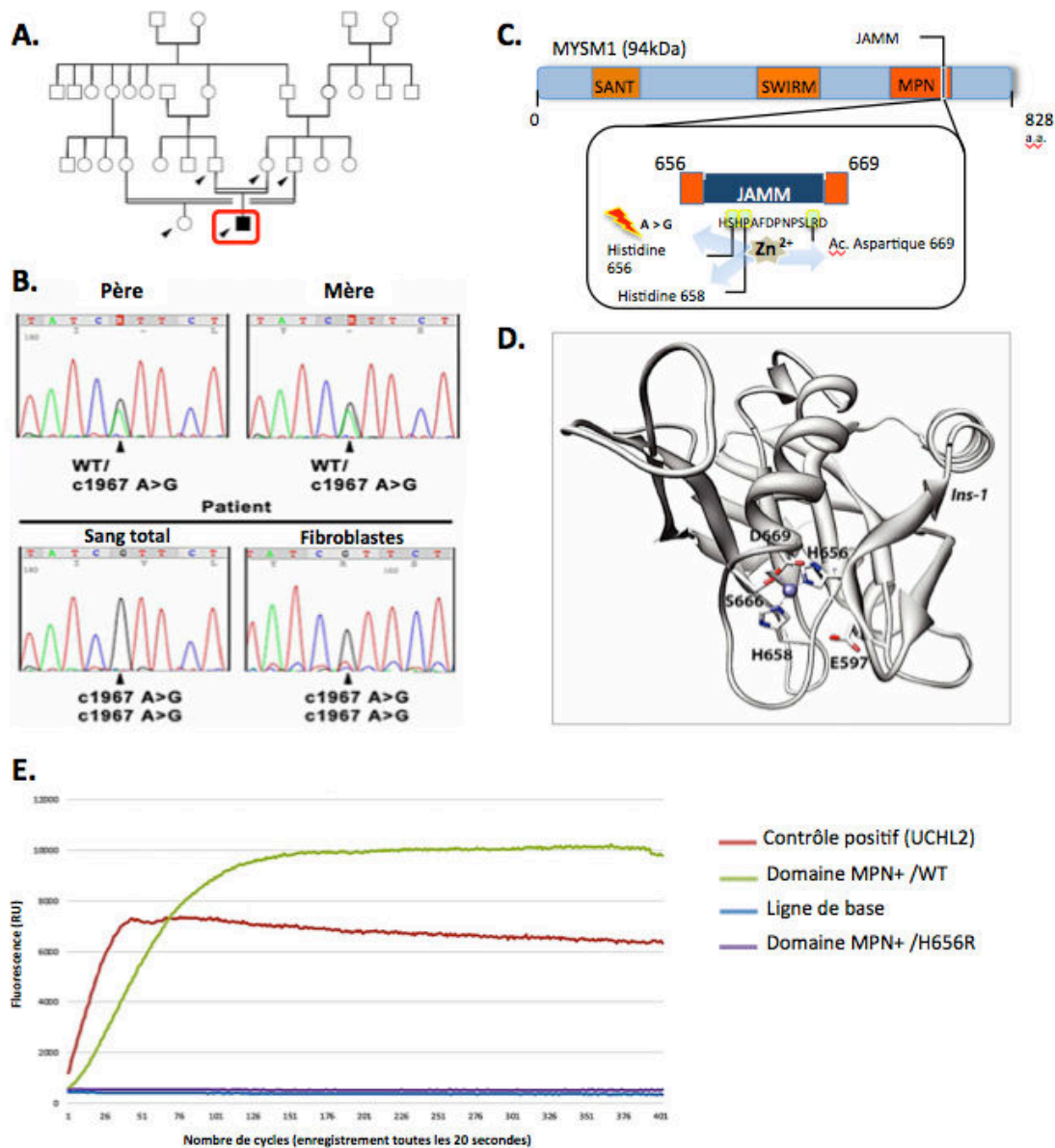


Figure 1 : Effet de la mutation H656R portée par le patient M sur l'activité déubiquitinase de MYSM1

(A.) Arbre phylogénétique du patient démontrant le lien de consanguinité présent dans la famille de ce dernier (B.) Séquençage direct réalisé à partir d'ADNg issu de prélèvements sanguins du patient M et de ses parents ainsi que des fibroblastes du patient M. (C.) Représentation schématique de la protéine MYSM1 et du domaine JAMM structuré autour d'un ion zinc. (D.) Représentation tridimensionnelle du domaine MPN+/JAMM de MYSM1 (collaboration avec Isabelle Callebaut - ENS). (E.) Test de déubiquitination in vitro. Résultats obtenus après un test d'activité in vitro du domaine déubiquitinase MPN+/JAMM de MYSM1 (WT ou muté) sur des substrats monoubiquitinés qui après déubiquitination émettent un signal fluorescent.

Défauts de réparation de l'ADN observés au sein des cellules du patient M

Les symptômes observés chez le patient M (Introduction – Chapitre 4 ; (Le Guen et al. 2015)) peuvent être le signe d'une pathologie associée à un défaut des voies de réparation de l'ADN. Avant le début de cette thèse, la sensibilité des fibroblastes primaires de ce dernier avait été testée face à divers agents génotoxiques.

Un test réalisé sur les fibroblastes primaires du patient et révélant la capacité à former des colonies cellulaires (clonogénie), a démontré une hypersensibilité des cellules du patient M à la phléomycine (induction de CDB) et à la mitomycine C (MMC : induction d'ICL) (Figure 2A). Egalement, après traitement à la mitomycine C, les fibroblastes primaires du patient M ont démontré une accumulation en phase G2/M du cycle cellulaire, signe d'une incapacité à réparer les ponts inter brins (Figure 2C). Ces premières observations suggéraient donc un défaut de réparation de l'ADN des cellules du patient.

Afin de réaliser des tests plus poussés de survie des cellules du patient en conditions génotoxiques, ces dernières ont été transformées et immortalisées. L'immortalisation est réalisée par intégration d'un vecteur d'expression de la sous-unité TERT humaine (hTERT) au sein des fibroblastes primaires du patient. Elle est accompagnée d'une transformation par un plasmide permettant l'expression de l'antigène grand T chélateur de p53 du virus simien SV40 (LTSV40). L'effet de LTSV40 est d'inhiber les voies pro-apoptotiques. Les cellules immortalisées ont ainsi un caractère oncogénique et démontrent une prolifération plus importante sans sénescence, grâce à la restauration de l'activité télomérase par hTERT.

Des tests de survie, réalisés sur les fibroblastes « transformés et immortalisés » du patient M ont confirmé une sensibilité accrue à la MMC et à la phléomycine et ont révélé une hypersensibilité aux inhibiteurs de PARP. L'hypersensibilité à la MMC n'est cependant pas aussi importante qu'un patient souffrant de l'anémie de Fanconi, et la sensibilité à la phléomycine n'est pas aussi forte que celle d'un défaut en Cernunnos (XLF). Aussi, aucune hypersensibilité aux UV, RI ou hydroxyurée n'a été observée pour les fibroblastes immortalisés du patient M (Figure 2B). Par soucis de clarté, les cellules immortalisées, par expression de LTSV40 et hTERT, seront à présent décrites sous le terme fibroSVtel+.

En corrélation avec l'hypersensibilité observée à la MMC, l'analyse des chromosomes bloqués en métaphase a révélé un niveau augmenté de chromosomes radiaux dans les fibroblastes

transformés du patient M après traitement à la MMC en comparaison à des contrôles. Les chromosomes radiaux sont des structures chromosomiques aberrantes révélant une incapacité des cellules à résoudre, dans ce cas précis, des ICL induits par la MMC (Figure 3). Bien que le taux de chromosomes radiaux observé dans les cellules du patient M, après traitement à la MMC, soit inférieur au taux observé dans les cellules d'un patient atteint de l'anémie de Fanconi, ces résultats renforcent l'idée que les cellules déficientes en MYSM1 présentent un défaut de réparation des ICL.

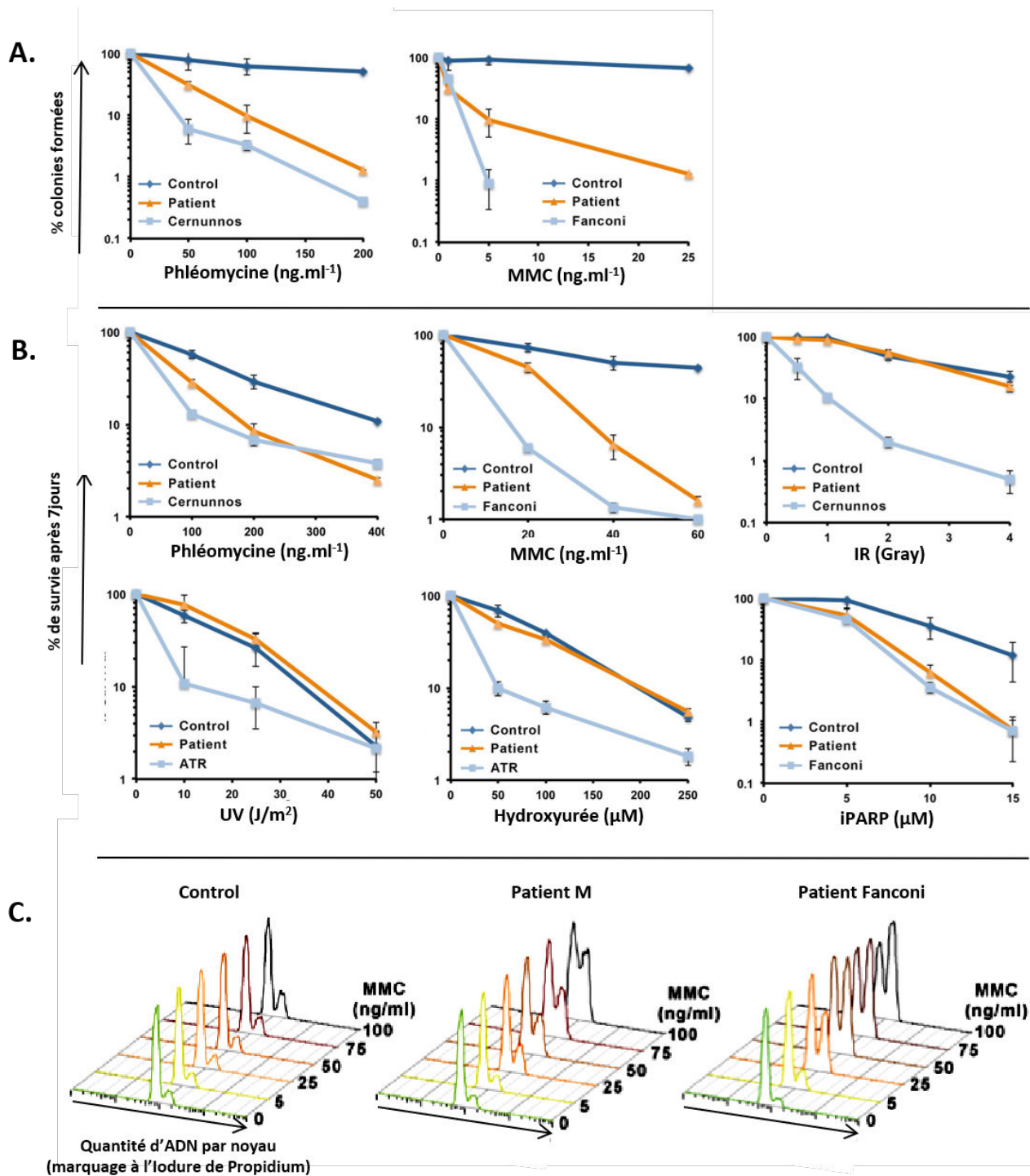


Figure 2 : Recherche de défauts de la DDR au sein des cellules du patient M

(A.) Tests de clonogénie réalisée sur fibroblastes primaires après traitement à la phléomycine ou MMC. (B.) Test de sensibilité à différents agents génotoxiques réalisés sur des fibroblastes transformés. Des fibroblastes transformés d'un patient Cernunnos sont utilisés comme contrôle sensible après traitement à la phléomycine et IR. Des fibroblastes transformés d'un patient atteint de l'Anémie de Fanconi sont utilisés comme contrôle sensible après traitement à la

MMC et aux inhibiteurs de PARP (iPARP). Des fibroblastes d'un contrôle sain, traités avec un inhibiteur d'ATR, sont utilisés comme contrôle sensibles après traitement à l'hydroxyurée et une irradiation aux UV. (C.) Test d'accumulation en phase G2/M du cycle cellulaire réalisé sur des fibroblastes primaires après traitement à la MMC. Des fibroblastes primaires d'un patient atteint de l'Anémie de Fanconi sont utilisés comme contrôle sensibles.

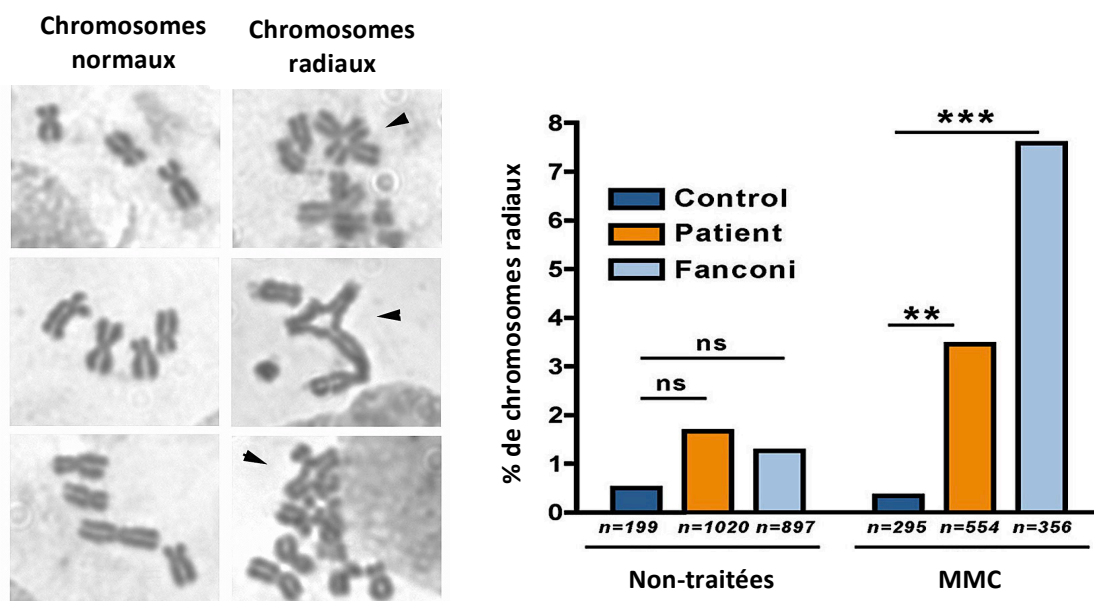


Figure 3 : Observation de défauts de prise en charge des ICL au sein des cellules du patient M

Une augmentation du pourcentage de chromosomes radiaux a été observée dans les fibroblastes transformés du patient M, après traitement à la MMC. Cette augmentation n'est pas aussi importante que celle observée chez un patient Fanconi, mais révèle un défaut de la prise en charge des ICL chez le patient M.

Analyse des checkpoints cellulaires et de l'ubiquitination de FANCD2 après dommages à l'ADN dans les fibroSV40/tel+ du patient M

Un défaut d'activation des checkpoints cellulaires peut entraîner une déstabilisation de la DDR et une hypersensibilité à certains agents génotoxiques. Cette sensibilité accrue peut alors se traduire par une instabilité chromosomique ou un blocage en phase G2/M. L'intégrité des voies d'activation des checkpoints cellulaires peut être vérifiée via la phosphorylation des facteurs Chk1 et Chk2. Ces deux facteurs sont des cibles des kinases ATR (Chk1) et ATM (Chk2) et sont des acteurs majeurs dans l'activation des checkpoints cellulaires après détection de dommages à l'ADN (Bartek et Lukas 2003; Q. Liu et al., s. d.). Afin d'évaluer si la sensibilité observée au sein des cellules du patient M à la phléomycine ou à la MMC est due à une altération des voies de signalisation des checkpoints cellulaires, la phosphorylation des facteurs Chk1 et Chk2 a été testée via Western Blot, en utilisant des lysats protéiques issus de fibroSVtel+ (Figure 4A). Les résultats obtenus ont démontré une phosphorylation de Chk1 et Chk2, au sein des cellules du patient M, comparable à celle d'un contrôle sain en présence ou non de dommages à l'ADN. L'activation de Chk2 conduit à un blocage du cycle en phase G2/M qui peut être vérifié par l'évaluation des niveaux d'histones H3 phosphorylée (marqueur associé à la condensation des chromosomes au cours de la phase G2/M), témoignant du pourcentage de cellules bloquées en phase G2/M (déterminée par marquage à l'iodure de propidium) (Figure 4B). Ce test a révélé une activation normale du checkpoint G2/M, comparable à un contrôle sain. En revanche, des cellules provenant d'un patient déficient en ATM, utilisées comme contrôle négatif, ont révélé une absence totale de checkpoint G2/M.

Après induction de CDB par irradiation, les cellules activent via ATM un checkpoint cellulaire permettant l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1, favorisant ainsi la réparation des cassures et évitant la présence d'un stress répliatif. Chez le patient M, l'arrêt en phase G1 après irradiation est comparable à celui d'un contrôle sain (Figur4D). Ces observations signifient que les checkpoints cellulaires après induction de dommages à l'ADN chez le patient M ne sont pas compromis et que l'hypersensibilité des cellules de ce dernier à la MMC ou phléomycine n'est pas dû à un défaut de la DDR dépendant d'ATM.

La voie Fanconi permet la prise en charge des ICL, pouvant être générés par exemple par la MMC (Introduction – Chapitre 1). Bien que l'hypersensibilité à la MMC observée chez le patient M ne soit pas équivalente à celle d'un patient Fanconi, un défaut de cette voie ne peut être écarté. La monoubiquitination de FANCD2 est nécessaire à la prise en charge des ICL et peut être considérée

comme marqueur de l'intégrité de la voie Fanconi (Grompe 2001; H. Kim et D'Andrea 2012). Cette monoubiquitination de FANCD2, après induction d'ICL, a été testée via Western Blot à partir de lysats protéiques issus de fibroSVtel+. Contrairement aux fibroSV d'un patient Fanconi, les cellules du patient M présentent, après induction d'ICL, une ubiquitination de FANCD2 comparable à celle d'un contrôle sain (Figure 4C).

Ces observations démontrent que les cellules du patient M ne possèdent aucune anomalie d'activation des checkpoints cellulaires ou de la voie Fanconi conduisant à l'ubiquitination de FANCD2, après dommages à l'ADN.

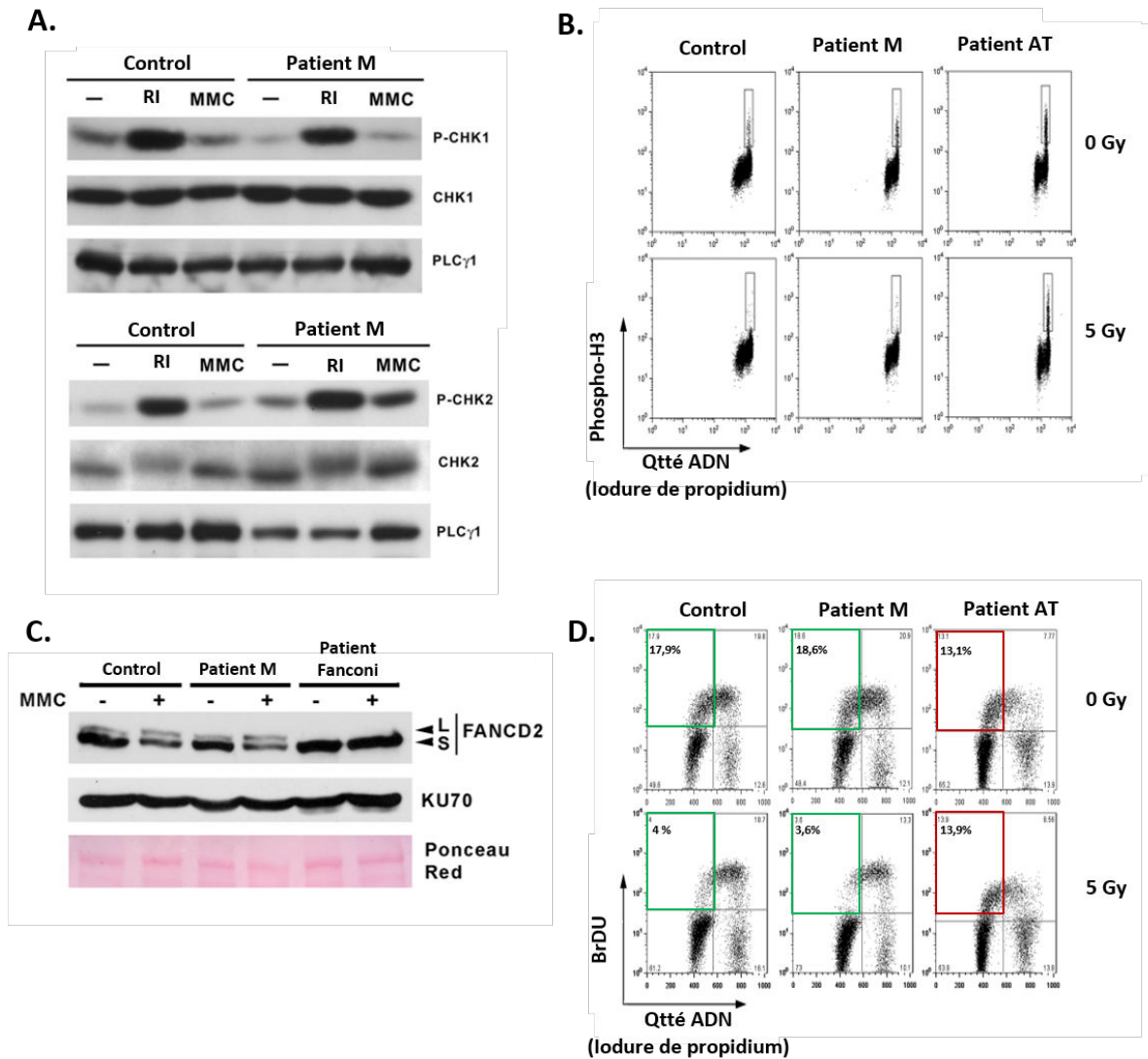


Figure 4 : Evaluation de l'intégrité des checkpoints cellulaires et de la voie Fanconi chez le patient M

(A.) Western Blot réalisés à partir d'extrait protéiques issus de fibroSVtel⁺. Les facteurs Chk1 et Chk2 révèlent une phosphorylation après induction de dommages à l'ADN, comme c'est le cas chez un contrôle sain. (B.) Evaluation des niveaux d'histone H3 phosphorylée avant et après induction de dommages à l'ADN. Ici la phosphorylation de H3 en G2 est juste un marqueur de G2/M pour analyser le checkpoint (C.) Western Blot effectué sur des lysats protéiques issus de fibroSVtel⁺, révélant une ubiquitination normale de FANCD2 dans les cellules du patient M, après induction d'ICL. (D.) Analyse du cycle cellulaire démontrant l'intégrité des checkpoints cellulaires et de l'activité d'ATM au sein des cellules du patient M. Les résultats démontrent chez le patient M un arrêt en phase G1 du cycle cellulaire comparable à un contrôle sain, après induction de dommages à l'ADN.

Profil transcriptionnel des fibroblastes primaires du patient M en présence ou non de MMC

La monoubiquitination d'H2AK119 est associée à une dérépression transcriptionnelle. L'activité de MYSM1 s'avère ainsi essentielle pour l'expression de gènes, notamment au niveau du système hématopoïétique. L'activité déubiquitinase de MYSM1 étant impactée par la mutation p.H656R, celle-ci pourrait entraîner une dérégulation transcriptionnelle de certains gènes cibles, et notamment de gènes codant des facteurs impliqués dans la DDR qui pourrait conduire à un défaut de réparation de l'ADN. Afin d'évaluer si une dérégulation transcriptionnelle pouvait être à l'origine de l'hypersensibilité du patient M face à certains agents génotoxiques comme la MMC ou la phléomycine, une analyse du transcriptome des fibroblastes primaires du patient M a été réalisée en présence ou non d'agents génotoxiques (MMC) et comparée à des cellules d'individu sain (Figure 5).

Une analyse du profil d'expression transcriptionnel en présence ou non de MMC, obtenu pour le patient M, a été comparé à celui d'un contrôle sain en utilisant un système appelé Expression BeadChip. Les résultats obtenus grâce à cette technique ont démontré une altération de l'expression d'un petit nombre de gènes non impliqués dans la DDR. Cette observation est conforme aux résultats publiés par Nijnik et al, en 2012 après analyse comparative du transcriptome dans des fibroblastes de souris (MEF) MyKO et WT. En effet, dans cette étude, aucune différence transcriptionnelle n'avait été observée dans ces cellules. Parmi les gènes différemment exprimés dans les fibroblastes primaires du patient M comparativement au contrôle, une exception peut être relevée pour le gène *RPA3*, affecté par une réduction de transcription d'environ 56% (Annexe 02). Ce dernier code une sous-unité de l'hétérotrimère RPA impliqué dans la protection des extensions simple-brin d'ADN lors de la réparation (S. K. Deng et al. 2014; Qi et al. 2015; Maréchal et Zou 2015). Il est important de préciser qu'une déficience en RPA générée par ARN interférence a été décrite comme entraînant un arrêt des cellules en phase G2/M ainsi qu'une hypersensibilité aux UV (Dodson, Shi, et Tibbetts 2004), deux caractéristiques absentes dans les cellules du patient M. Aussi, une comparaison des profils d'expression entre le patient M et un contrôle sain n'a révélé aucune dérégulation spécifique, après induction de dommages par la MMC pouvant expliquer la sensibilité de ces cellules aux agents génotoxiques. Cette dérégulation de *RPA3* a donc été considérée comme insuffisante pour expliquer les défauts observés chez le patient M.

Le fait qu'aucune dérégulation transcriptionnelle de gènes liés à la DDR n'ait pu être identifiée renforçait l'hypothèse d'une implication directe de MYSM1 dans la DDR. Afin de vérifier

cette hypothèse nous avons tout d'abord voulu déterminer si MYSM1 pouvait physiquement être recruté aux sites de dommages de l'ADN.

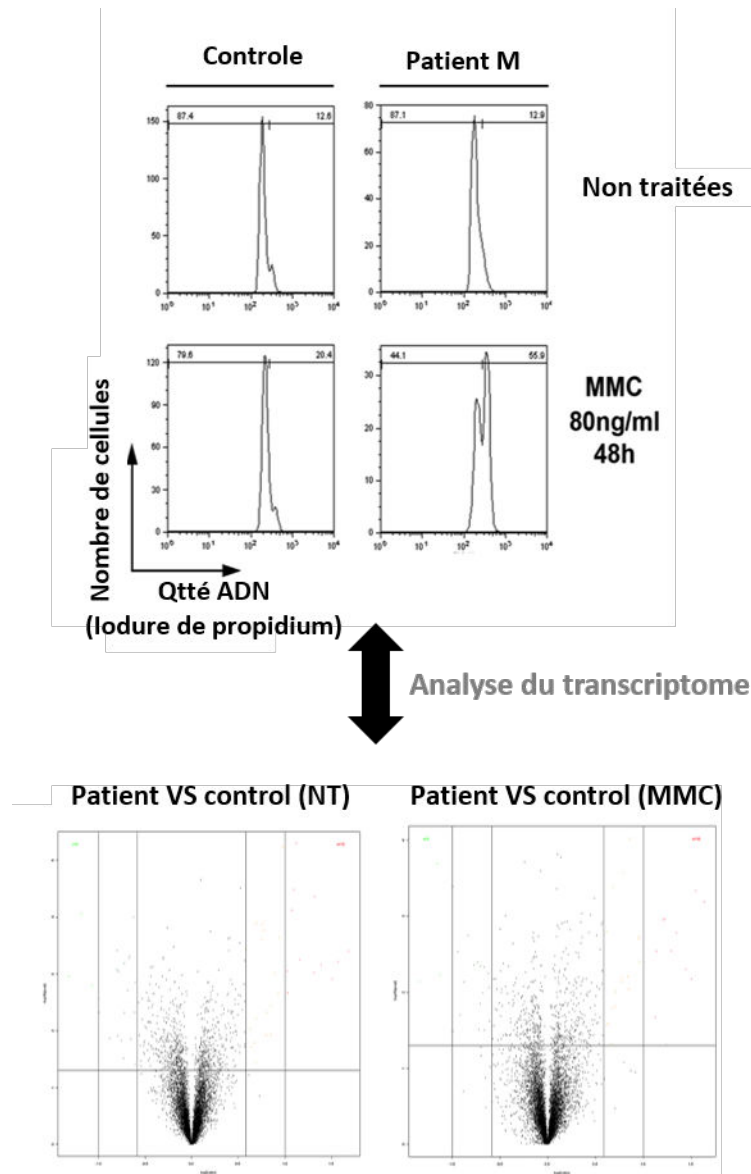


Figure 5 : Analyse du transcriptome au sein des fibroblastes du patient M.

Analyse du transcriptome réalisée à partir des fibroblastes primaires du patient M ou d'un contrôle sain, en présence ou non de dommages à l'ADN (traitement à la MMC). Expériences réalisées en triplicat.

Analyse du recrutement de MYSM1 aux dommages de l'ADN générés par microirradiation laser

La microirradiation laser ou « laser foci » est une technique de microscopie confocale associée à une irradiation localisée de l'ADN au sein de cellules vivantes. Cette technique permet d'observer le comportement de protéines couplées à un fluorophore après dommages à l'ADN (Bekker-Jensen et al. 2006), et permet donc d'analyser le comportement spatio-temporel de ces dernières au cours de la DDR. MYSM1 est partenaire de pCAF dans des étapes de dérégulation transcriptionnelle et de décondensation de la chromatine. MYSM1 interagit également avec les facteurs BRG1 et BRM du complexe SWI/SNF (P. Zhu et al. 2007). Le recrutement de pCAF, BRG1 ou BRM au site de CDB a déjà été décrit grâce à cette technique de microirradiation laser (Gong et al. 2015). Ainsi, une des réalisations de cette thèse a été le développement et l'implémentation de cette technique de microirradiation laser au sein du laboratoire, afin d'étudier le comportement de MYSM1 et d'autres facteurs (S. Zhang et al. 2016) en présence de CDB. Des constructions plasmidiques permettant l'expression de MYSM1 couplé à la GFP et de NBS1 (utilisé comme contrôle positif de recrutement) couplé au fluorophore Ds-RED ont été produits.

La génération de CDB par irradiation laser, au sein de cellules HEK293T traitées au BrdU (agent photosensibilisant) et exprimant de manière transitoire MYSM1-GFP, NBS1-DsRED ou mCherry-NLS (contrôle négatif) a permis d'observer un recrutement de MYSM1-GFP et NBS1-DsRED (contrôle positif) au site de dommages de l'ADN, à l'inverse du contrôle négatif NLS-mCherry (Figure 6A). NBS1-DsRED forme des foyers au site d'irradiation, témoignant du recrutement de facteurs de la réparation tels que le complexe MRN dont il fait partie. De façon intéressante, MYSM1-GFP a également démontré un recrutement à la suite de la génération de CDB par irradiation laser, bien que moins intense que celui observé pour NBS1. Étonnamment MYSM1 est dans un premier temps rapidement recruté au site d'irradiation, avant de s'étendre pour former un anneau autour du foyer de réparation matérialisé par l'enrichissement en NBS1-DsRED dans les cellules HEK293T (Figure 6A & B). Des expériences similaires réalisées avec un vecteur permettant l'expression de la forme mutée H656R de MYSM1 couplée à la GFP a permis de révéler que la mutation ne modifiait pas ce comportement, bien que la structure en anneau soit plus difficilement détectable (Figure 6C).

Ces résultats indiquaient donc que MYSM1 et H656R sont recrutés aux sites de cassure de l'ADN générés par microirradiation laser en se focalisant initialement au site irradié puis en se relocalisant à la périphérie des dommages générés par la microirradiation. Ces observations

représentaient donc un argument supplémentaire pour impliquer MYSM1 dans une fonction directe de réparation de l'ADN.

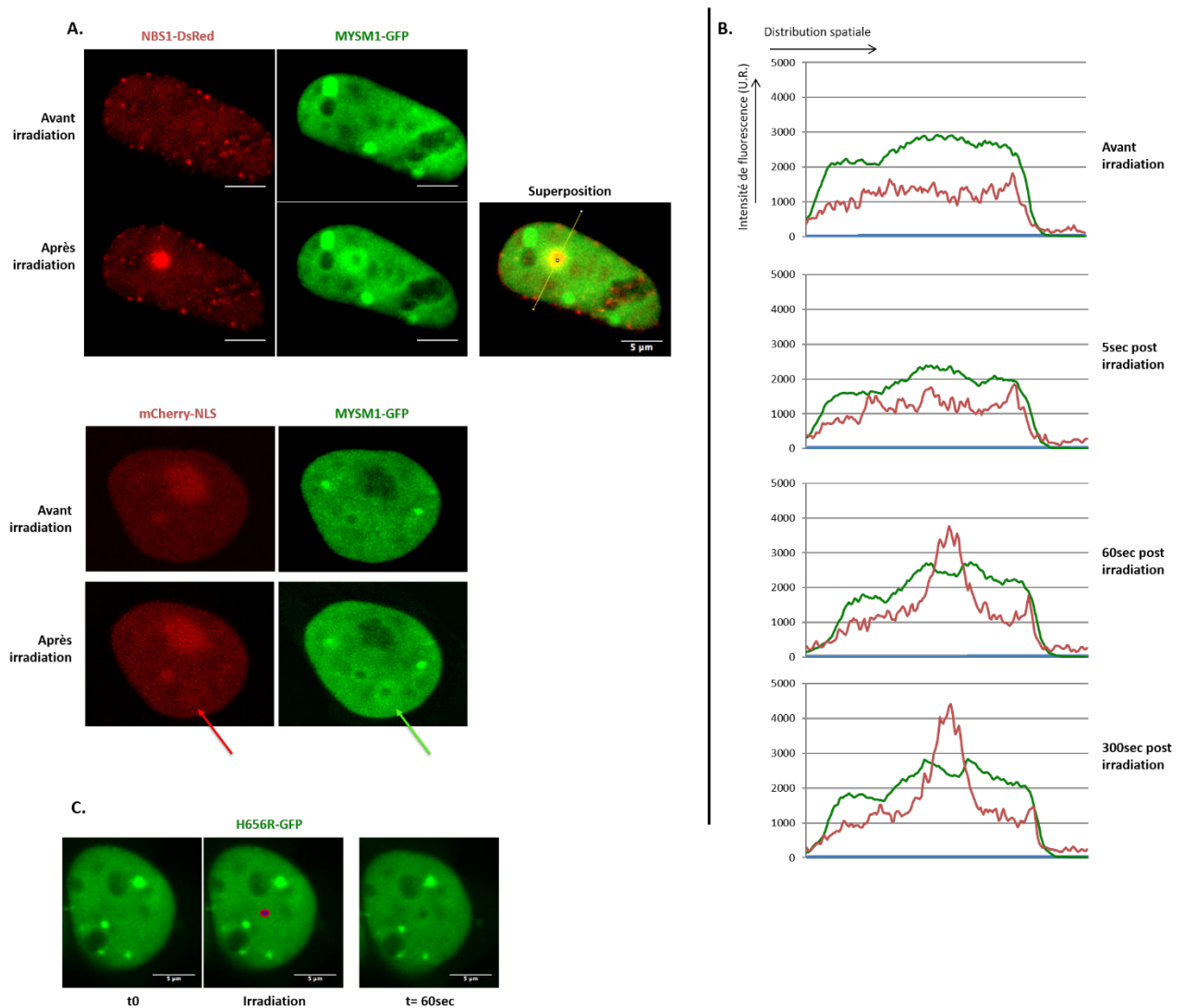


Figure 6 : Expériences de microirradiation laser réalisées au sein de cellules HEK293T

(A.) Des cellules HEK293T ont été transfectées afin de coexprimer MYSM1-GFP et NBS1-DsRED. Le recrutement de ces deux facteurs après irradiation ponctuelle via un laser UV (405nm) est observable sur ces images (B.) Représentation, à différents temps, du niveau d'intensité de MYSM1-GFP et NBS1-DsRED au niveau de la ligne présentée sur l'image de superposition de la figure précédente (C.) Observation du comportement de H656R-GFP au sein de cellules HEK293T après irradiation ponctuelle via un laser UV (405nm).

Défauts de la DDR au sein des fibroblastes du patient M

Les résultats décrits précédemment (à l'exception de la microirradiation laser), ont été obtenus au laboratoire dans le prolongement des travaux de Le Guen et al., avant le début de cette thèse. Ils ont permis d'orienter la réflexion sur l'impact d'une déficience en MYSM1 dans la DDR, ainsi que la direction des travaux présentés ci-après.

Afin d'obtenir plus d'informations sur la relation entre défaillance de MYSM1 et mécanismes de réparation de l'ADN, un marquage du facteur 53BP1 (médiateur de la réparation des CDB) a été réalisé avec ou sans traitement génotoxique sur les fibroblastes primaires du patient M et d'un contrôle sain. Les résultats obtenus, après comptage des foyers 53BP1 par noyaux, ne démontrent aucune présence de foyers spontanés au sein de ces cellules (Figure 7A). En revanche, les résultats obtenus après induction de CDB par traitement à la phléomycine ont révélé une proportion plus élevée de noyaux sans foyers 53BP1 chez le patient M (Figure 7B) et une induction de foyers 53BP1 (nombre de foyers par noyau) plus faible dans les fibroblastes primaires du patient M, que chez un contrôle sain, suggérant une activation réduite de la DDR (Figure 7C). Ces résultats issus de deux expériences indépendantes, démontrent un défaut d'activation de la DDR au sein des fibroblastes primaires du patient M.

L'expression de MYSM1 au sein des fibroSVtel+ du patient M a été de nouveau évaluée par Western Blot. Le résultat obtenu correspond aux observations faites par Le Guen et al., avec une déstabilisation de la protéine MYSM1 portant la mutation p.H656R (Figure 8C).

Egalement, des tests de sensibilité aux agents génotoxiques ont de nouveau été réalisés sur les fibroSVtel+ du patient M afin de vérifier les résultats obtenus précédemment. Les résultats de ces tests démontrent toujours une sensibilité accrue à la MMC (Figure 8A). De plus, un test d'accumulation en phase G2/M après traitement à la mitomycine C a été réalisé sur les fibroSVtel+ du patient M et d'un contrôle sain (Figure 8D). Les résultats de cette expérience confirment un blocage en phase G2/M des cellules du patient M après traitement à la MMC.

En revanche, aucune augmentation de la sensibilité après traitement à la phléomycine n'a été retrouvée dans les fibroSVtel+ du patient M, en comparaison avec un contrôle sain (Figure 8B). Ces résultats montrent une différence significative avec les résultats obtenus précédemment, et restent, de manière problématique, difficilement explicables pour le moment.

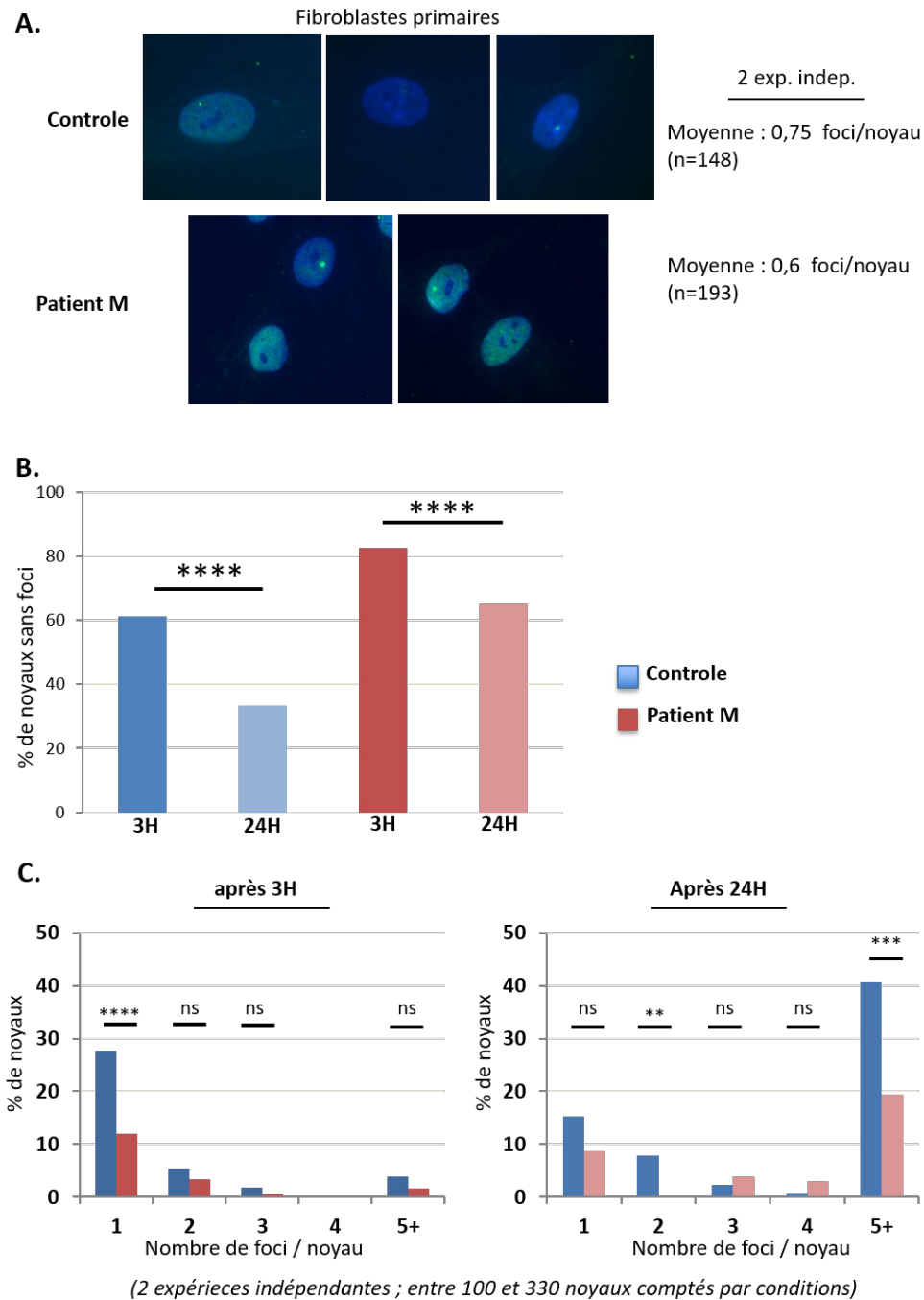


Figure 7 : Evaluation de la DDR par marquage de 53BP1 au sein de fibroblastes primaires

(A.) Aucun foyer 53BP1 observé au sein des fibroblastes primaires du patient M et d'un contrôle sain sans traitement génotoxique. (B.) Observation d'un nombre plus important de noyaux sans foyers 53BP1 chez le patient M après induction de CDB par traitement à la phléomycine. (C.) Le comptage du nombre de foyers 53BP1 après traitement à la phléomycine révèle une diminution du nombre de foyers par noyaux dans les fibroblastes primaires du patient M.

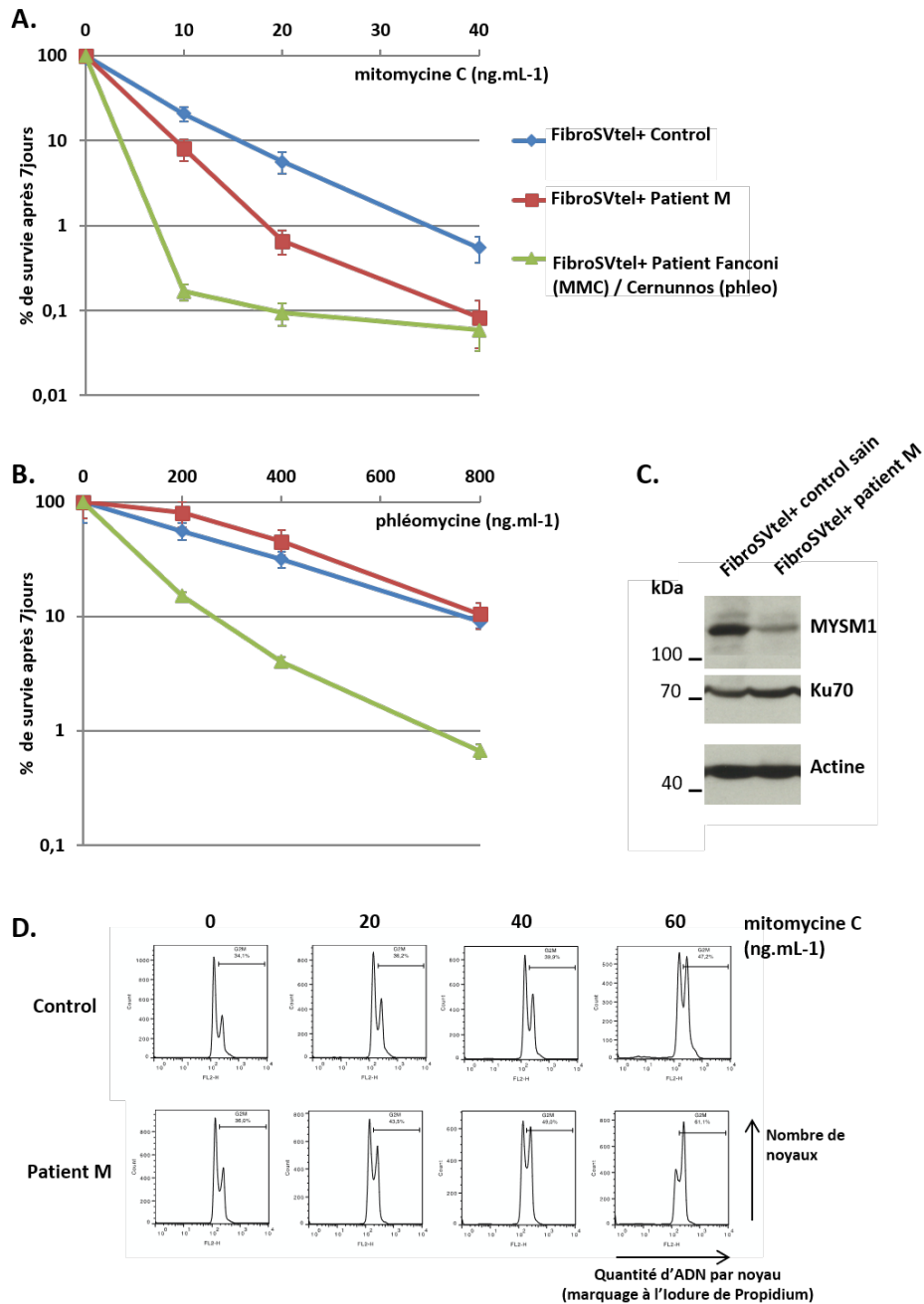


Figure 8 : Evaluation de la stabilité d'H656R et de la sensibilité à la phléomycine et MMC au sein des fibroSVtel+ du patient M.

(A.) Test de sensibilité après traitement à la MMC des fibroSV du patient M (B.) Test de sensibilité après traitement à la phléomycine des fibroSV du patient M. Chaque test de sensibilité a été réalisé un minimum de 3 fois et chaque point d'un graphique représente la moyenne d'un triplicat (C.) Western Blot réalisé sur des extraits protéiques issus de fibroSVtel+ montrant une déstabilisation de H656R. (D.) Accumulation des fibroSVtel+ du patient M en phase G2/M après traitement à la MMC.

Développement d'un système CRISPR/Cas9 permettant la génération de modèles cellulaires humains MyKO

A l'exception des expériences de microirradiation laser, l'étude du rôle potentiel de MYSM1 au sein de la DDR s'est rapidement retrouvée limitée. En effet, l'obtention de résultats était jusqu'à présent restreinte à l'analyse des cellules d'un patient unique portant une mutation particulière de MYSM1. Afin d'étendre l'acquisition de résultats à des systèmes plus généraux, le développement de modèles cellulaires MyKO a été privilégié. Ces nouveaux modèles cellulaires, déficients en MYSM1, permettraient d'obtenir plus d'informations quant au rôle potentiel de ce dernier dans la DDR et de vérifier ceux obtenus dans les cellules du patient M. Afin de développer ce type de modèle, un système d'expression utilisant la technique de mutagenèse dirigée CRISPR/Cas9 a été développé (Mali, Esvelt, et Church 2013; F. Zhang, Wen, et Guo 2014). Un plasmide, portant la séquence ADN codant la protéine Cas9 ainsi qu'un guide ARN, a été utilisé afin de générer des mutations sur le gène codant MYSM1. La séquence ciblée génique de MYSM1, ciblée par ce système, se trouve à l'intérieur de l'exon16, proche de la mutation c.1967A>G portée par le patient M. Ce système CRISPR/Cas9 a été employé sur différents modèles cellulaires : cellules U2OS, fibroSVtel+ et cellules RPE1.

L'utilisation de ce système CRISPR/Cas9 a permis de sélectionner plusieurs lignées clonales MyKO au sein des différents types cellulaires utilisés. Alors qu'une expression de MYSM1 est détectable via Western Blot dans une lignée WT, aucune expression n'est détectable au sein des lignées MyKO sélectionnées (Figure 8B, 9B & 10B). Pour les cellules U2OS, un séquençage de l'ADNg de lignées clonales démontrant une absence de MYSM1 par Western Blot (Figure 9A & B) a révélé, pour la lignée U2OS MYSM1 205, une délétion de 12 paires de bases sur un allèle et une insertion d'une paire de base sur le second allèle. Pour la lignée sélectionnée U2OS MYSM1 219, celle-ci a révélé une insertion d'une paire de base sur un allèle et une délétion de 54 paires de base sur le deuxième allèle. Ces deux lignées ont été confirmées comme MyKO par Western Blot (Figure 9B).

Pour les fibroSVtel+, deux lignées ont été sélectionnées démontrant chacune une perte d'expression de MYSM1 en Western Blot (Figure 10B) ainsi qu'une délétion de deux paires de bases homozygote sur le gène MYSM1 causant un décalage du cadre de lecture et générant un codon stop prématuré (Figure 10A). Ces deux lignées partagent un même génotype mais ont été sélectionnées à partir de deux expériences de mutagenèse indépendantes.

Analyse de la sensibilité aux agents génotoxiques des lignées U2OS et fibroSVtel+ MyKO

Les cellules MyKO obtenues après utilisation du système CRISPR/Cas9, au sein des lignées U2OS et fibroSVtel+, ont été soumises à des tests de sensibilité aux agents génotoxiques (MMC ou phléomycine) afin de déterminer quel pouvait être la conséquence d'une absence complète de MYSM1 sur la réparation de l'ADN dans ces cellules.

De façon inattendues les cellules U2OS MyKO, n'ont révélé aucune augmentation de la sensibilité après traitement à la MMC et à la phléomycine (Figure 9C). Par ailleurs, les deux clones fibroSVtel+ MyKO ont présenté, de façon répétée (n=4), une hypersensibilité accrue à la MMC. Cependant, nous avons observé une différence d'intensité de sensibilité à la MMC de ces 2 clones bien qu'ils présentent tous deux une absence complète de MYSM1. En effet, la lignée fibroSVtel+ MYSM1 214 apparaît plus sensible à un traitement par la MMC que la lignée 216. De plus, à l'instar des fibroSVtel+ du patient M, aucune augmentation de la sensibilité à la phléomycine n'a été observée dans les fibroSVtel+ MyKO (Figure 10C). Cette hétérogénéité des résultats a amené à reconsidérer la validité de ces types cellulaires comme modèles d'études d'un défaut de MYSM1.

En effet, les cellules U2OS sont caractérisées par une surexpression de MDM2 menant à une altération de la voie p53 (Landers, Cassel, et George, s. d.). Or, il a été démontré que MYSM1 et p53 possédaient un lien particulier, et qu'une altération de la voie p53 pouvait masquer les effets d'une délétion de MYSM1 (Introduction – Chapitre 4). Egalement, une transformation de cellules (fibroblastes) par l'antigène grand T du virus simien SV40 peut affecter la DDR au sein de ces cellules (Kohli et Jorgensen 1999) ainsi que l'activation de la voie p53 (Technau et al. 2001). L'altération de la voie p53 au sein de ces lignées pourrait ainsi être à l'origine de l'hétérogénéité des résultats obtenus lors des tests de sensibilité à la MMC et phléomycine. Enfin, des effets inhérents à l'aspect clonal de ces cellules sur la DDR ne peuvent être écartés.

Afin d'évaluer l'état d'activation de p53 dans ces différents types cellulaires, la présence de p53 phosphorylé en sérine15 (Loughery et al. 2014), et en présence d'un stress génotoxique (MMC), a été analysée par Western blot (Figure 9D). Ces résultats démontrent une absence d'activation de la voie p53 après dommages à l'ADN dans plusieurs types cellulaires comme les HEK293T ou U2OS. Les fibroSVtel+ du patient M et d'un contrôle sain, en revanche, révèlent une phosphorylation de p53 (S15) induite par la MMC. Les cellules U2OS n'apparaissent donc pas comme un modèle cellulaire fiable afin d'étudier un défaut de MYSM1. En ce qui concerne les

fibroSVtel+, ces derniers montrent une voie p53 potentiellement fonctionnelle. Cependant, l'absence d'hypersensibilité de ces cellules à la phléomycine comme observée dans les derniers tests réalisés sur les FibroSVtel+ du patient M reste difficilement explicable. Ainsi, les modèles cellulaires MyKO obtenus au sein de ces différentes lignées n'apparaissent pas comme les plus appropriés pour étudier l'effet d'une absence de MYSM1 dans la DDR.

La poursuite du projet a donc été axée sur l'étude de l'effet d'une absence de MYSM1 dans un modèle cellulaire considéré comme plus physiologique. Les cellules RPE1 sont des fibroblastes issus de la rétine immortalisés par réexpression de hTERT. Ces cellules, n'exprimant pas SV40 et possédant une voie p53 fonctionnelle (Lambrus et al. 2015), ont donc été choisies pour étudier l'impact d'une absence en MYSM1 sur la DDR.

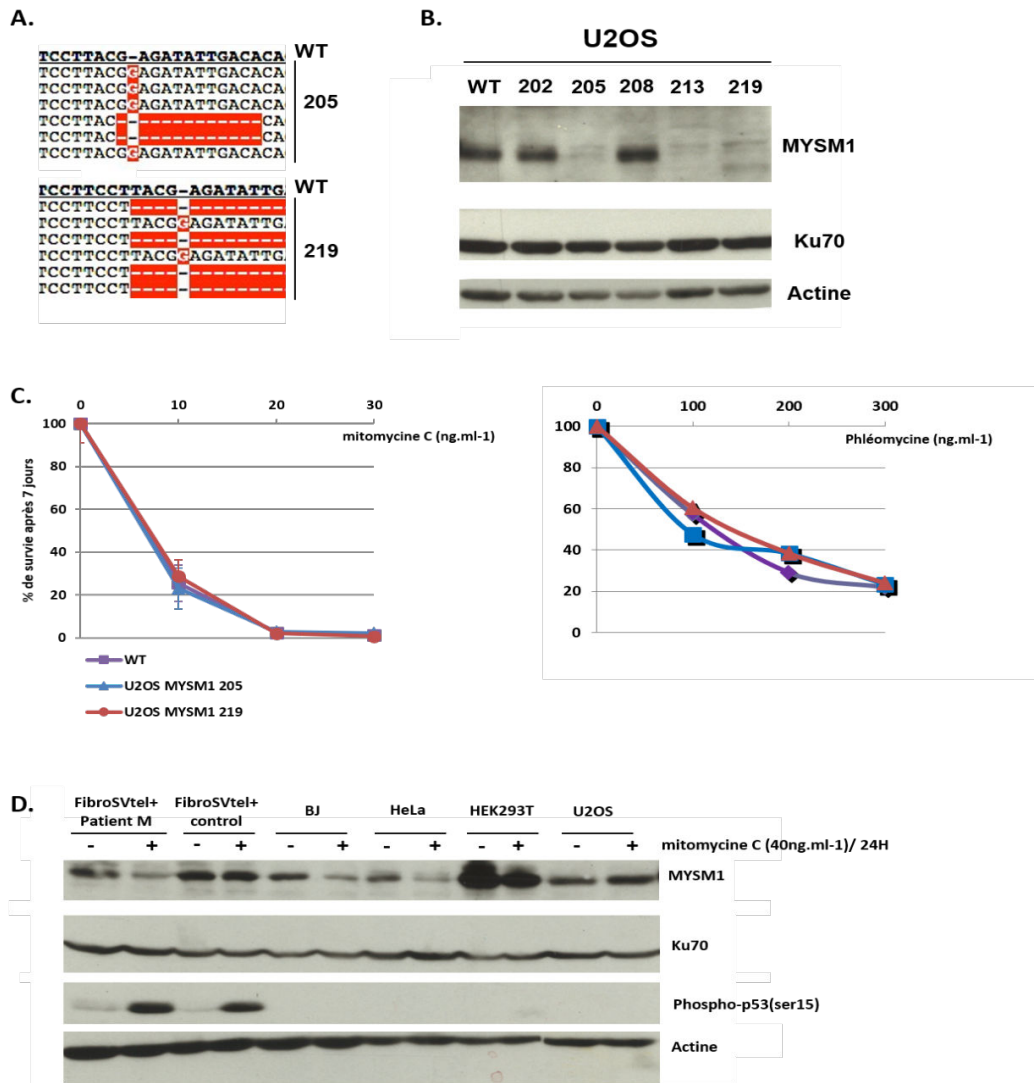


Figure 9 : Lignées U2OS MyKO

(A.) Représentation des séquences obtenues pour les lignées U2OS MYSM1 205 et U2OS MYSM1 219 au niveau de l'exon 16 du gène *MYSM1*. La lignée 215 présente une insertion d'une paire de base sur un allèle, et une délétion de 12 paires de bases avec un décalage du cadre de lecture sur l'autre allèle. La lignée 219 présente également une insertion d'une paire de base sur un allèle ainsi qu'une délétion de 54 paires de base sur le second allèle, menant à un décalage du cadre de lecture. (B.) Western Blot représentant l'expression de MYSM1 dans les différentes lignées obtenues après utilisation du système CRISPR/Cas9 sur les cellules U2OS. (C.) Test de sensibilité à la MMC et phléomycine des cellules U2OS MyKO. Chaque point d'un graphique représente la moyenne d'un triplicat. (D.) Western Blot réalisé à partir d'extraits protéiques issus de différentes lignées cellulaires utilisées au laboratoire. Cette figure illustre les niveaux d'expression de MYSM11 et phospho p53(ser15) avec ou sans traitement à la MMC.

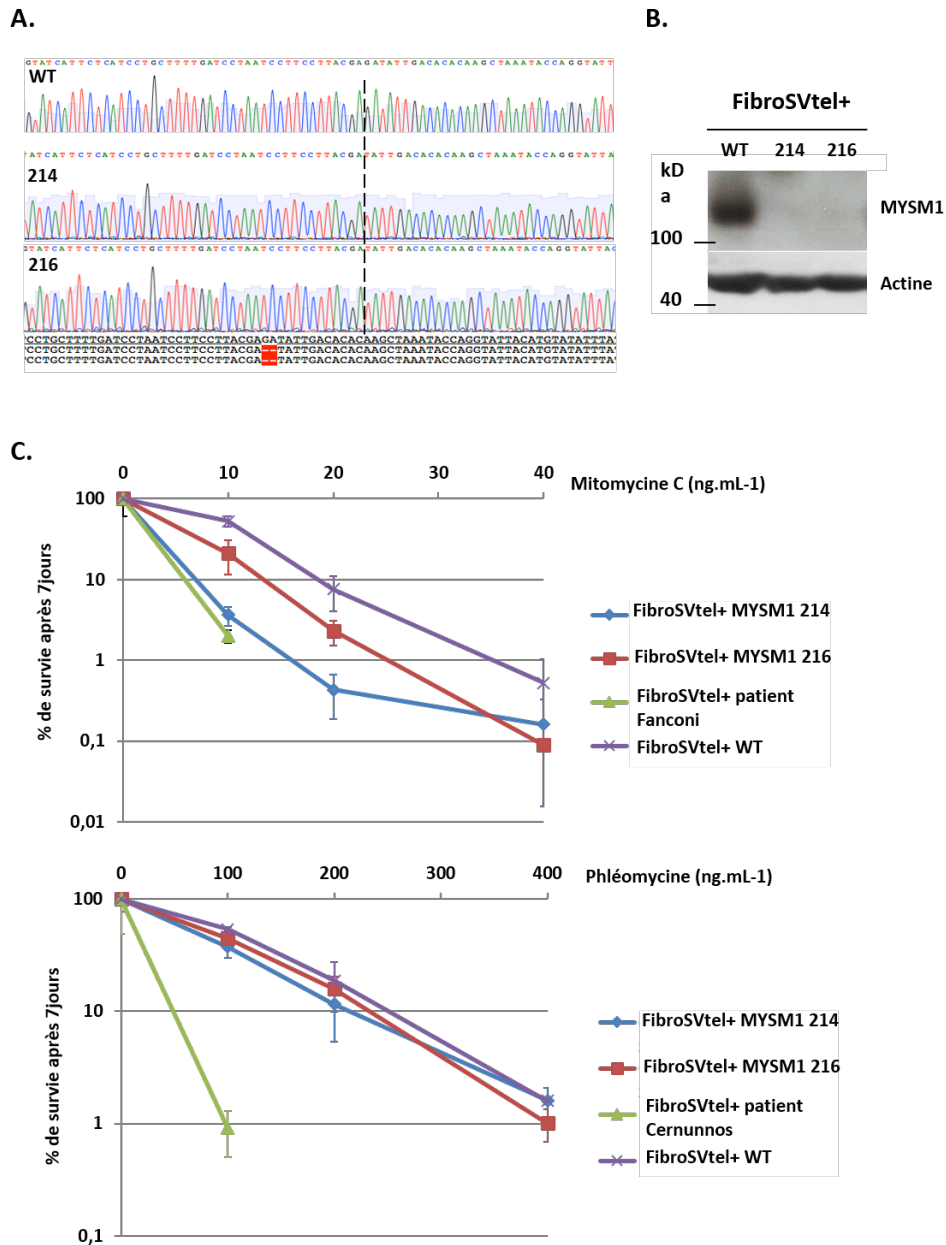


Figure 10 : Lignée de fibroSVtel+ MyKO

(A.) Représentation des séquences obtenues pour les lignées fibroSVtel+ MYSM1 214 et fibroSVtel+ MYSM1 216 au niveau de l'exon 16 du gène *MYSM1*. Ces deux lignées isolées de manière indépendante présentent une même mutation homozygote sur l'exon 16 du gène *MYSM1*, sous la forme d'une délétion de deux paires de bases (B). Western Blot représentant l'expression de MYSM1 dans les différentes lignées obtenues après utilisation du système CRISPR/Cas9 sur les cellules fibroSVtel+.

(C.) Tests de sensibilité après traitement à la MMC et phléomycine des fibroSVtel+ MyKO. Chaque test de sensibilité a été réalisé un minimum de 3 fois et chaque point d'un graphique représente la moyenne d'un triplicat.

Analyse de la réparation de l'ADN au sein de lignées RPE1 MyKO

L'utilisation du système CRISPR/cas9 dans des cellules RPE1 a permis de sélectionner deux clones MyKO. Après séquençage de l'ADN génomique de ces cellules, les RPE1 MYSM1 206 ont révélé une mutation homozygote du gène MYSM1 sous forme d'une délétion de 14 paires de base accompagnée d'une insertion de cinq paires de base, menant à un décalage du cadre de lecture et à l'apparition d'un codon stop prématuré. La lignée RPE1 MYSM1 208 a révélé une insertion homozygote d'une paire de base menant également à un décalage du cadre de lecture (Figure 11A) et à l'apparition d'un codon stop prématuré. L'absence d'expression de MYSM1 a été vérifiée par Western Blot dans ces cellules (Figure 11B). Ces deux lignées MyKO issues des cellules RPE1 (RPE1 MYSM1 206 et 208) ont révélé une hypersensibilité après traitement à la MMC ainsi qu'à la phléomycine (Figure 11C), en comparaison avec une lignée RPE1 WT. Cette hypersensibilité est semblable aux résultats obtenus dans les fibroblastes primaires et fibroSV du patient M avant le début de cette thèse. Ces observations suggèrent alors qu'une absence de MYSM1 provoque une hypersensibilité face à ces agents génotoxiques et permet de valider l'utilisation des cellules RPE1 comme modèle d'étude MyKO.

Afin d'évaluer si une absence de MYSM1 pouvait perturber la DDR et le recrutement aux dommages de l'ADN de facteur de la réparation tel que NBS1, les lignées RPE1 WT et MyKO ont été soumises à des expériences de microirradiation laser.

Celles-ci ont été transfectées afin d'exprimer de façon transitoire NBS1-GFP. Les résultats obtenus ont permis d'observer le recrutement de NBS1 au sein de chacune de ces lignées, après irradiation laser (Figure 12A). Cependant, une modélisation de la cinétique de recrutement de ce facteur révèle une réduction de l'intensité du recrutement dans les cellules MyKO. Ces résultats suggèrent que MYSM1 n'apparaît pas essentiel au recrutement de NBS1 au site de lésion d'ADN mais pourrait participer à son accumulation ou sa stabilité au niveau des CDB (Figure 12B).

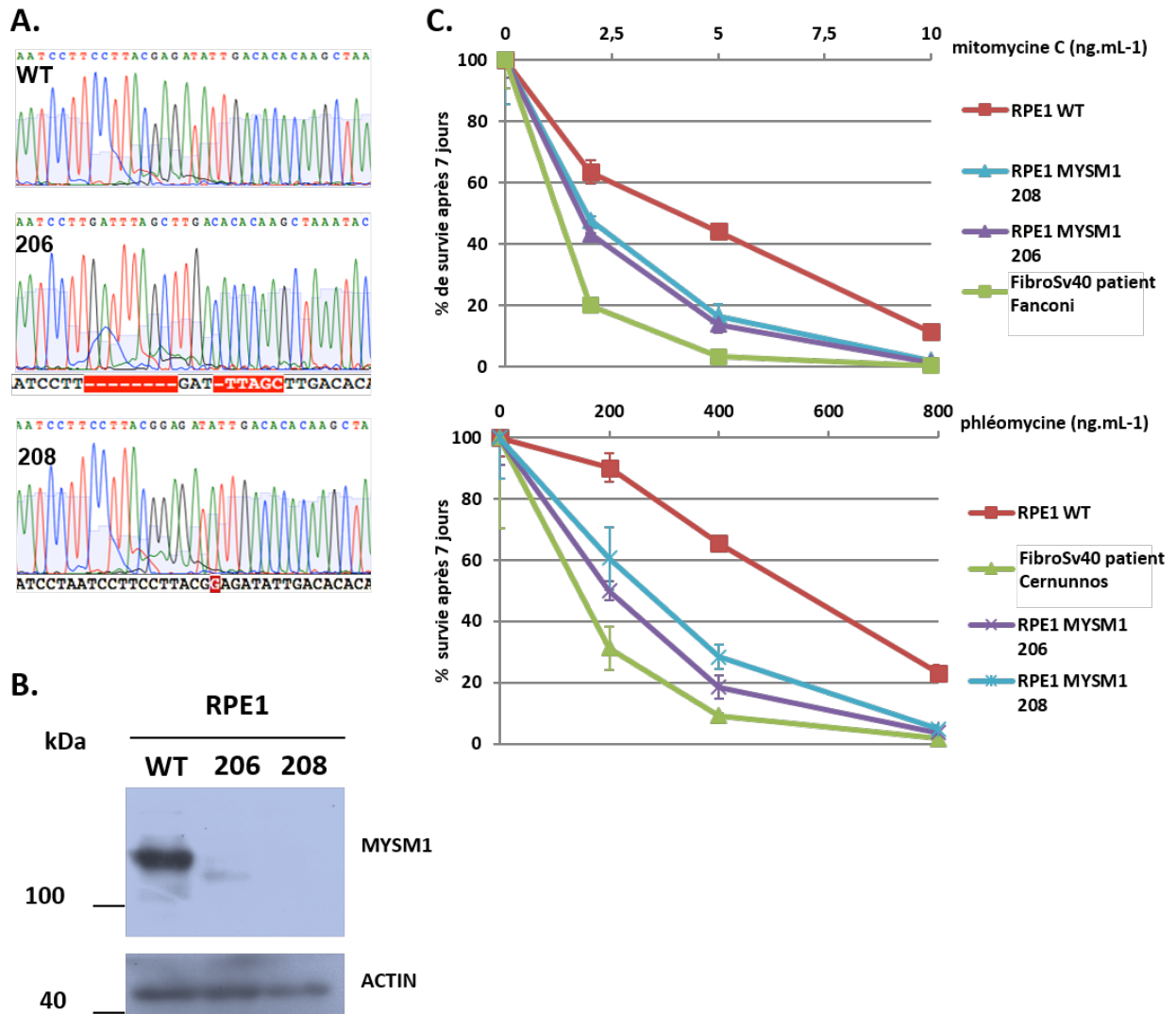


Figure 11 : Lignées RPE1 MyKO

(A.) Représentation des séquences obtenues pour les lignées RPE1 MYSM1 206 et RPE1 MYSM1 208 au niveau de l'exon 16 du gène *MYSM1*. La lignée 206 présente une mutation homozygote sous la forme d'une délétion de 14 paires de base associée à une insertion de cinq paires de bases « TTAGC » menant à un décalage du cadre de lecture. La lignée 208 présente une insertion homozygote d'une paire de base menant également à un décalage du cadre de lecture. (B). Western Blot représentant l'expression de MYSM1 dans les différentes lignées obtenues après utilisation du système CRISPR/Cas9 sur les cellules RPE1 (C.) Tests de sensibilité après traitement à la MMC et phléomycine des RPE1 MyKO. Chaque test de sensibilité a été réalisé un minimum de trois fois et chaque point d'un graphique représente la moyenne d'un triplicat.

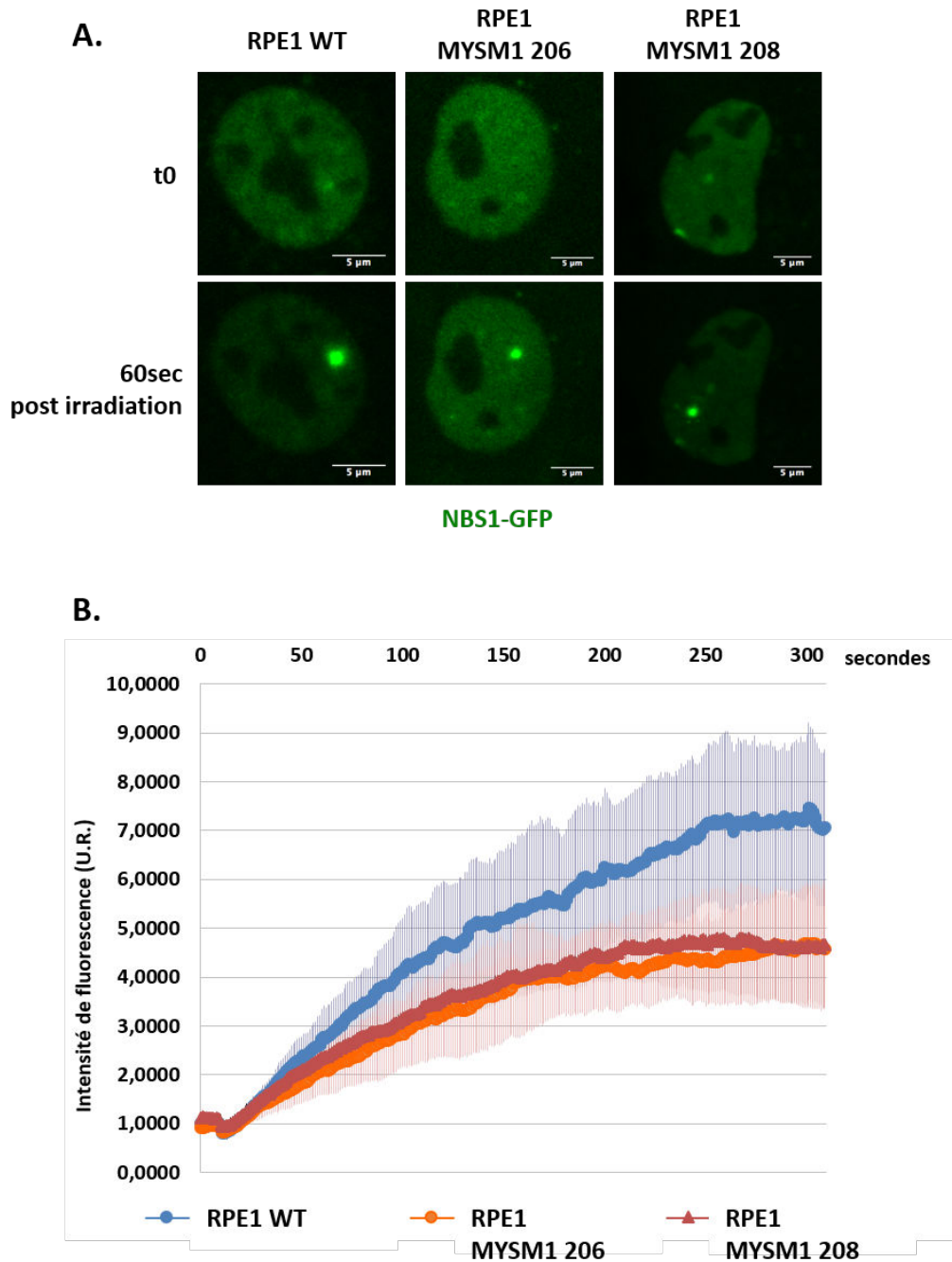


Figure 12 : Expérience de microirradiation laser réalisées au sein de lignées RPE1 WT et MyKO

(A.) Observation du recrutement de NBS1-GFP au sein de lignées RPE1 WT et MyKO après irradiation ponctuelle via un laser UV (405nm) (B.) Représentation de la cinétique de recrutement de NBS1-GFP au site d'irradiation par laser au sein de lignées RPE1 WT et MyKO. La modélisation de cette cinétique utilise des données obtenues à partir de l'irradiation de quatre noyaux pour chaque lignée, présentant des niveaux de fluorescence équivalents. Toutes les données ont été obtenues dans des conditions identiques de culture des cellules, d'irradiation et d'acquisition des images.

Les résultats obtenus précédemment dans les lignées RPE1 MyKO suggèrent une implication de MYSM1 dans la DDR. La complémentation de ces défauts de la DDR via une restauration de l'expression de MYSM1 est cependant nécessaire afin de valider définitivement l'implication de MYSM1 dans ce phénotype (hypersensibilité à la MMC et phléomycine ; défaut de signalisation des CDB). Ceci permet en particulier de s'assurer que les phénotypes observés dans les cellules RPE1 MyKO ne sont pas dus à un effet « off target » des guides ARN utilisés lors de leur génération via le système CRISPR/Cas9.

Dans ce but, un vecteur lentiviral a été développé afin d'induire une expression de MYSM1 ou H656R au sein de cellules cibles. Le vecteur de base employé est un vecteur lentiviral pCW57. Ce vecteur possède un promoteur TRP (Tetracycline Responsive Promoter) permettant une expression inductible par ajout de doxycycline et un gène de sélection à la puromycine. Le vecteur pCW57 permet une expression multigénique grâce à la présence d'une séquence codant un peptide P2A autoclivable. Cette séquence se trouve entre une cassette codant la GFP et un site de clonage permettant l'insertion d'un gène d'intérêt. Ce système permet ainsi d'exprimer de manière dose-dépendante, après induction par la doxycycline, la partie codante (ADNc) d'un gène d'intérêt (ici MYSM1) couplée avec celle de la GFP. Le peptide P2A, situé entre la GFP et la protéine d'intérêt, permet la séparation par clivage de cette dernière et de la GFP de manière indépendante. La protéine d'intérêt se retrouve nue (sans TAG) et le niveau de GFP, observable par cytométrie en flux, permet d'apprécier le niveau d'induction transcriptionnelle et indirectement le niveau d'expression de la protéine d'intérêt.

Chaque lignée RPE1 MyKO et WT a été transduite soit avec le vecteur pCW57 dépourvu d'insert (vecteur vide) ou bien avec un insert permettant l'expression inductible de MYSM1 ou H656R. Les cellules RPE1 WT et MyKO (206 et 208) ont été transduites en parallèle avec ces différents vecteurs. Ce système d'expression, appliqué aux cellules RPE1 MyKO, a été validé par Western Blot et analysé en cytométrie en flux (Figure 13A & B).

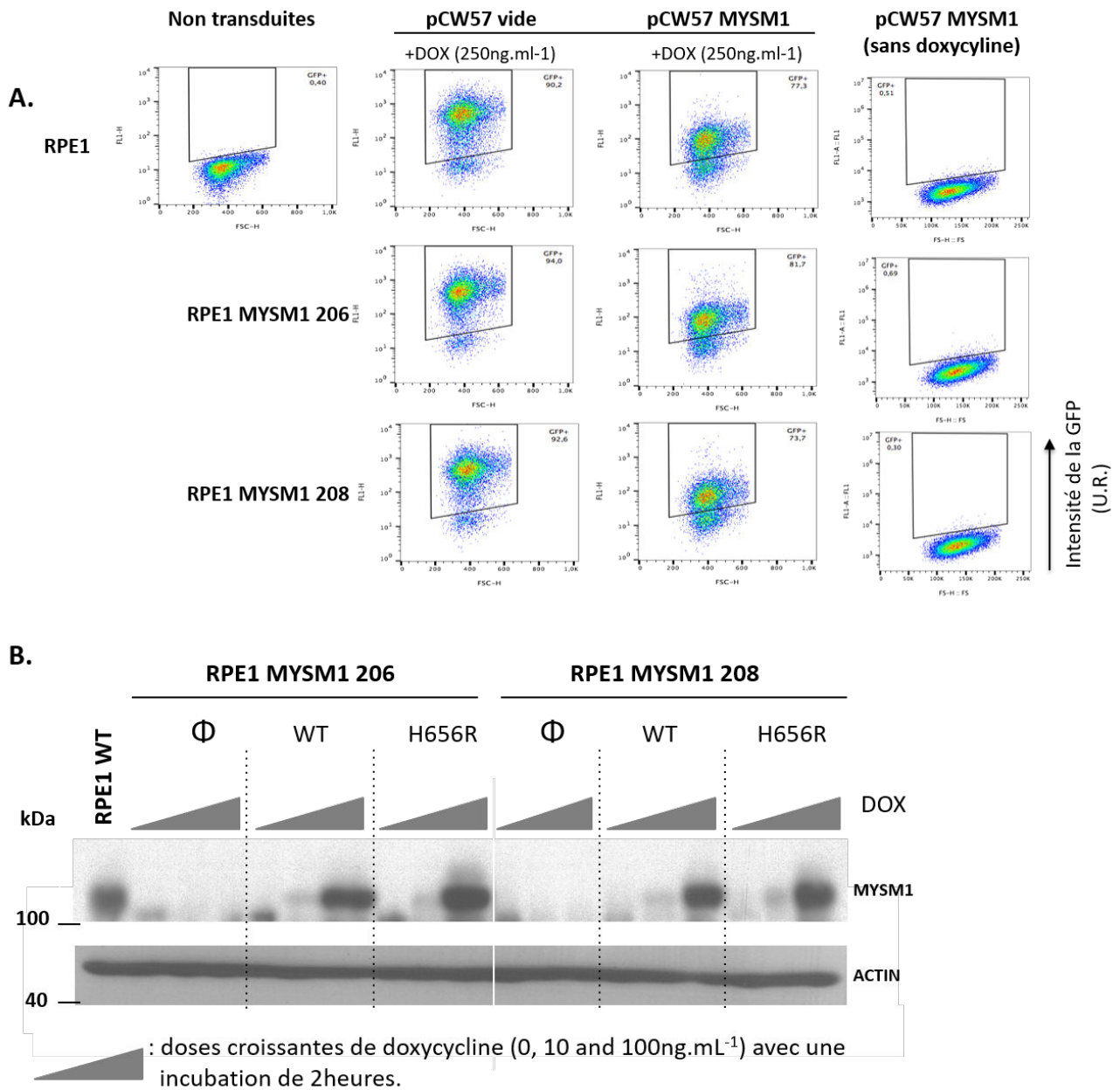


Figure 13 : Validation du système d'expression inductible via le vecteur lentiviral pCW57

(A.) Analyse de cytométrie en flux montrant une induction de l'expression de la GFP après ajout de la doxycycline (500ng.mL⁻¹) pendant 24 heures, après quatre jours de sélection des cellules transduites via 12 ug.mL⁻¹ de puromycine (B.) Western Blot réalisé à partir d'extraits protéiques issus des lignées RPE1 MyKO et démontrant les niveaux d'expression de MYSM1 ou H656R en fonction de doses croissantes de doxycycline.

Tests de complémentation RPE1 MyKO après réexpression de la forme WT ou H656R de MYSM1

Les différentes lignées RPE1 transduites par pCW57 ont été soumises à plusieurs tests de sensibilité aux agents génotoxiques en présence ou en absence de DOX. Ce système d'expression inductible, demandant une optimisation préalable de la durée du traitement et de la dose de doxycycline employée, a été testé plusieurs fois après induction de dommages par traitement à la phléomycine. En effet, les cellules RPE1 étant sensibles à des doses très faibles et donc très précises de MMC (Figure 11C), la phléomycine a été sélectionnée pour les étapes d'optimisation.

En absence de doxycycline, aucun effet des vecteurs pCW57 vide ou pCW57 MYSM1 n'est observable sur la sensibilité des RPE1 à un traitement par phléomycine. Le vecteur pCW57 H656R ne démontre aucun changement de sensibilité à l'exception de la lignée RPE1 WT. Cette augmentation de sensibilité n'étant pas retrouvée par la suite pour cette lignée, celle-ci est difficilement explicable et peut être considérée comme une variation expérimentale, indépendante du type cellulaire étudié (Figure 14).

Les expériences menées après induction des vecteurs pCW57 vides par la doxycycline ($250\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$), n'ont démontré aucun changement de la sensibilité des cellules WT ou MyKO à la phléomycine. Cependant, l'induction de l'expression des vecteurs pCW57 MYSM1 après ajout de doxycycline ($250\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$), dans les lignées RPE1 MYSM1 206 et 208 révèle une complémentation de leur sensibilité à la phléomycine (Figure 14). Ces résultats démontrent formellement un lien entre absence de MYSM1 et hypersensibilité à la phléomycine. Des tests similaires devront être à présents réalisés en utilisant la MMC.

De façon très intéressante, l'induction de l'expression d'H656R, contrairement à l'induction de MYSM1, ne permet pas de compléter la sensibilité accrue à la phléomycine, observée dans ces cellules RPE1 MyKO (Figure 14). Au contraire, il semble que l'expression d'H656R augmente la sensibilité de ces dernières à la phléomycine. Cette observation suggère que la forme H656R pourrait être toxique et plus délétère pour la cellule qu'une absence de MYSM1.

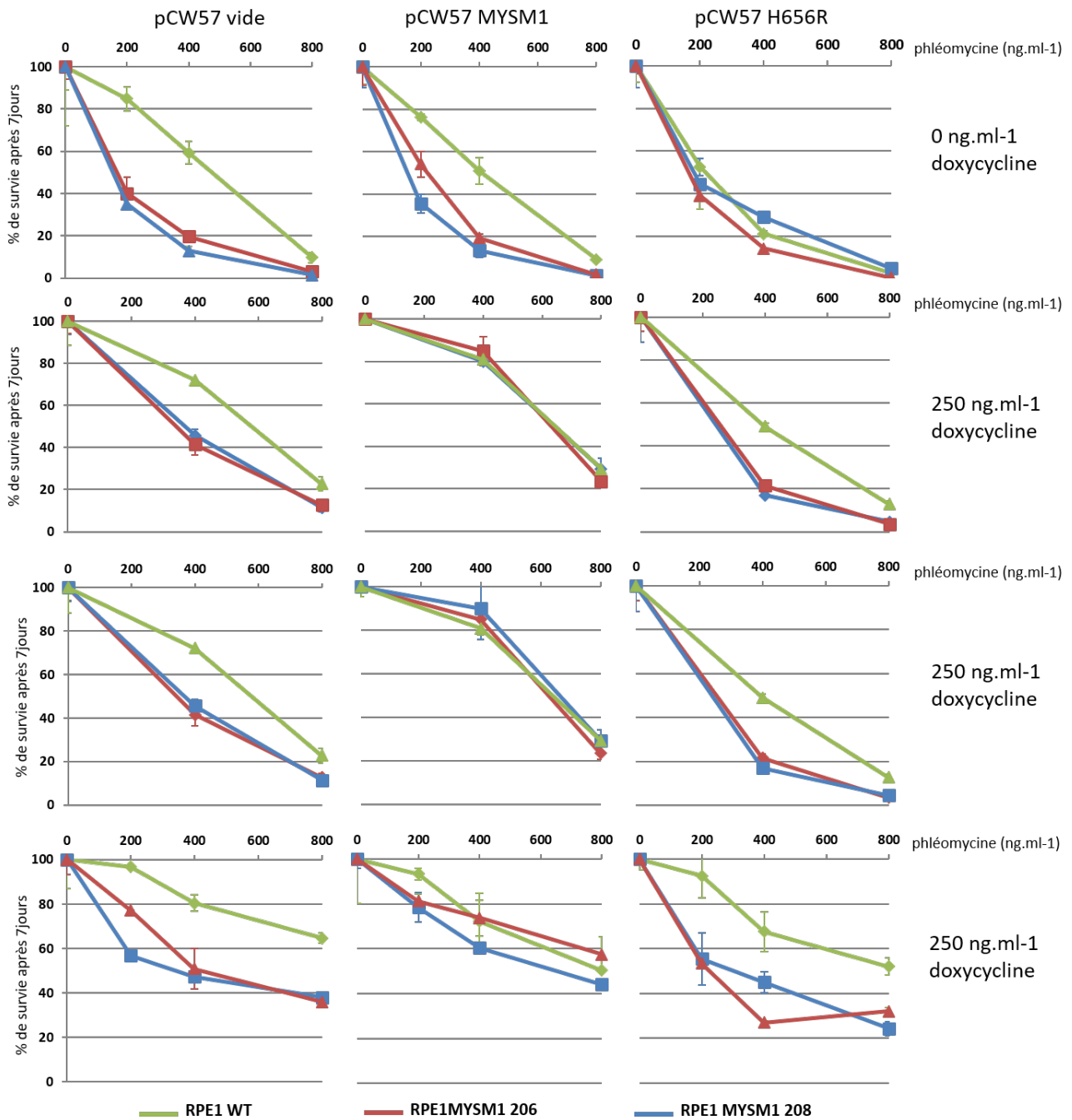


Figure 14 : Tests de complémentation de l'hypersensibilité à la phléomycine des lignées RPE1 MyKO

Représentation de quatre tests indépendants réalisés après traitement à la phléomycine sur les différentes lignées RPE1 transduites avec pCW57 vide, MYSM1 ou H656R. Le premier test a été réalisé sans ajout de doxycycline. Les trois suivants ont été réalisés avec ajout de 250ng.ml⁻¹ de doxycycline 24heures avant ajout de la phléomycine. Chaque point représente la moyenne d'un triplicat.

Génération de souris MyKO et tests de sensibilité aux agents génotoxiques

La génération de souris MyKO avait été initiée avant le début de cette thèse et entre temps, plusieurs articles décrivant le phénotype de ce modèle animal ont été publiés par d'autres (Ref, Nijnik etc..). Nos souris présentaient l'ensemble des défauts développementaux décrits dans la littérature comme une atrophie de la queue, des problèmes au niveau des membres inférieures et une absence de pigmentation au niveau de l'abdomen (Figure 15A). Le développement de ce modèle murin a permis l'obtention de MEF-SV40 (Mouse Embryonic Fibroblasts) MyKO et l'absence d'expression de MYSM1 au sein de ces cellules a été vérifiée par Western Blot (Figure 15B).

Aucune évaluation de la DDR n'ayant été présentée dans la littérature sur des modèles murins, l'obtention de MEF-SV40 a permis d'effectuer plusieurs tests de sensibilité à la MMC ou phléomycine sur un modèle différent du modèle humain. De façon intéressante, les MEF-SV40 MyKO ont révélé une hypersensibilité à la phléomycine, quasiment comparable à celle de MEF-SV40 déficients en LIGIV, renforçant l'hypothèse d'une implication de MYSM1 dans cette voie de réparation. En revanche, et de façon inattendue, ces cellules murines MyKO ont révélé une sensibilité à la MMC similaire à celle de cellules WT (Figure 15C). Ces observations, difficiles à concilier avec les résultats obtenus dans nos modèles cellulaires humains, posent de nouveau la question d'un impact de SV40 sur la DDR mais également la question d'une différence pouvant exister inter-espèces. Dans tous les cas, le modèle murin MyKO semble lui aussi souffrir, au moins en partie, de défauts de réparation des CDB.

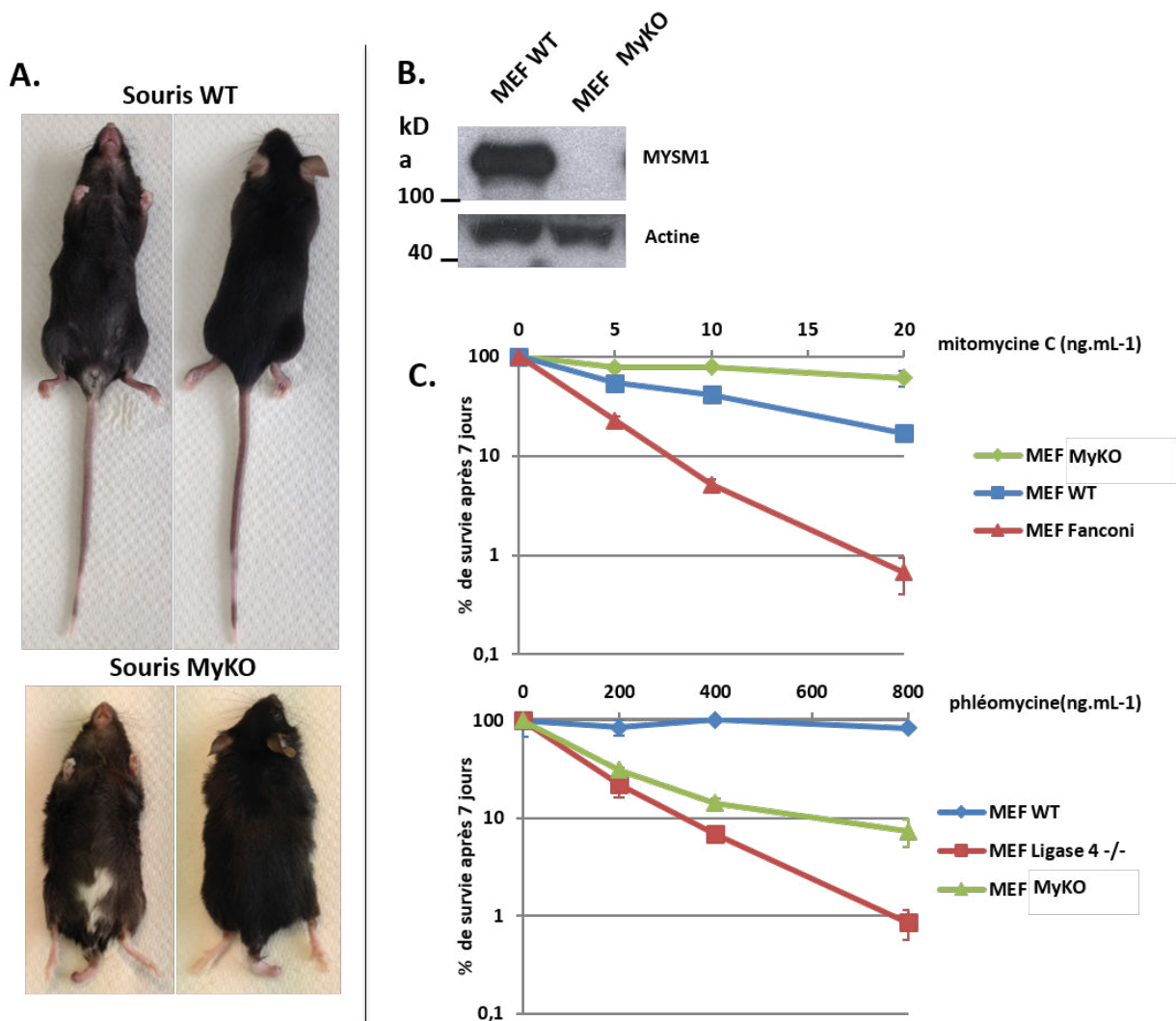


Figure 15 : Analyse de la DDR au sein de MEF-SV40 MyKO.

(A.) Photographie prise au laboratoire présentant des souris WT ou MyKO (B.) Western Blot réalisé à partir d'extraits protéiques issus de MEF-SV40, montrant le niveau d'expression de MYSM1 dans ces différentes lignées (C.) Tests de sensibilité réalisés sur des MEF-SV40 MyKO après traitement à la phléomycine ou MMC. Chaque test de sensibilité a été réalisé un minimum de 3 fois et chaque point du graphique représente la moyenne d'un triplicat.

PARTIE II.2 : [Caractérisation phénotypique d'un patient présentant des signes de vieillissement accéléré associés à une immunodéficience et une hypoplasie du cervelet : Implication du facteur ZNF699]

Au cours de la première partie de cette thèse, consacrée à l'étude de MYSM1, de nombreux écueils expérimentaux ont été rencontrés. Ces derniers ont, un temps, significativement ralenti la progression de ce projet. C'est pourquoi, en parallèle, une toute autre étude a été initiée et sera présentée ci-dessous.

Cette seconde partie du travail de thèse porte sur l'étude d'un patient, nommé patient Z, caractérisé par un tableau clinique atypique et dont les échantillons biologiques (prises de sang et fibroblastes primaires) ont été adressés au laboratoire. L'objectif de cette deuxième partie de thèse a été, dans un premier temps, d'approfondir la caractérisation phénotypique de ce patient et de sa pathologie, et dans un second temps, d'identifier le facteur génétique pouvant être à l'origine de ce phénotype.

Phénotype clinique du patient Z

Le patient est issu d'une famille consanguine (Figure 16A). Celui-ci présentait à la naissance une insuffisance médullaire avec une lymphopénie modérée, un retard de croissance intra utérin, une dysplasie ectodermique, une hypotonie globale avec ptose palpébrale, une microcéphalie avec atrophie du cervelet et un retard mental. Ces symptômes s'accompagnaient également de signes de vieillissement accéléré comme la présence de cils et cheveux gris et cassants.

Puisque le patient Z présentait des caractéristiques cliniques compatibles avec le syndrome Høyer-Hreidarsson associé à des télomères anormalement courts, la taille de ses télomères a été évaluée par analyse de « telomere restriction fragment » suivie d'un Southern Blot. La mesure des télomères a été réalisée à partir d'ADN extrait des cellules sanguines dans tous les membres de la famille. La technique de Southern Blot utilisée a révélé une longueur moyenne des télomères du patient Z anormalement réduite (moyenne de 8,1kb) compte tenu de son âge, et en comparaison, avec son frère sain, son père et sa mère (longueur moyenne des télomères de 12,7kb 10,8kb et 13,9kb respectivement) (Figure 16B). Cette première observation suggère donc que la pathologie du patient est associée à un défaut de maintenance télomérique compatible avec le syndrome HH.

Afin de poursuivre l'étude phénotypique, des fibroblastes primaires du patient Z ont pu être obtenus. Ces cellules se sont avérées extrêmement difficiles à maintenir en culture, avec un arrêt de la prolifération après seulement 4 à 5 passages probablement causé par une taille réduite des télomères qui peut affecter la capacité de prolifération des cellules (sénescence). De plus, les télomères étant facilement altérés par un stress oxydatif (Boesten et al. 2013; Prasad, Wu, et Bondy 2017), et les télomères du patient présentant déjà une taille anormale, les fibroblastes primaires du patient Z ont été placés dans un incubateur hypoxique (3% d'oxygène). Malgré ces précautions, la prolifération de ces cellules n'a montré aucune amélioration. Ce phénotype pouvant être causé par une sénescence prématurée des cellules (Bernadotte, Mikhelson, et Spivak 2016; Victorelli et Passos 2017), un test d'activité de la (beta)galactosidase à pH acide (B. Y. Lee et al. 2006), permettant d'évaluer le taux de cellules sénescents dans une population cellulaire, a été réalisé sur les fibroblastes primaires du patient Z et d'un contrôle sain avec un nombre de passages plus avancé. Les résultats ont révélé un niveau extrêmement élevé de sénescence dans les cellules primaires du patient Z, en corrélation avec leur difficulté de prolifération (Figure 16C).

Une activation persistante de la DDR est souvent observable au sein de cellules sénescents associées à un raccourcissement des télomères (Hewitt et al. 2012). Des marquages d'immunofluorescence ciblant le facteur 53BP1, couplés à un marquage FISH via l'utilisation d'une sonde télomérique, ont été réalisés sur les fibroblastes primaires du patient Z et d'un contrôle sain. Ces marquages ont pour but d'évaluer la présence ou l'absence de TIF (Telomere Induced Foci), témoins d'une activation de la DDR au niveau des télomères (H. Takai, Smogorzewska, et de Lange 2003). Il faudra ici prendre en compte que la prolifération limitée des fibroblastes primaires du patient Z n'a permis de réaliser cette expérience qu'une seule fois. Le résultat de ce double marquage a tout d'abord mis en évidence une augmentation du nombre de foyers 53BP1 spontanés dans les fibroblastes primaires du patient Z en comparaison de ceux d'un contrôle sain à un passage plus avancé (P7 pour le patient Z contre P17 pour le contrôle sain) (Figure 17A).

De plus, la grande majorité des foyers 53BP1 détectés, dans les fibroblastes primaires du patient Z, sont localisés aux télomères marqués par la sonde télomérique. Ceux-ci démontrent donc une augmentation importante du nombre de TIF dans les fibroblastes primaires du patient Z, témoignant d'une dysfonction télomérique (Figure 17B).

Afin d'augmenter les capacités prolifératives de ces cellules, ces dernières ont été transformées par expression de l'antigène grand T du virus SV40 (OZER et al., s. d.).

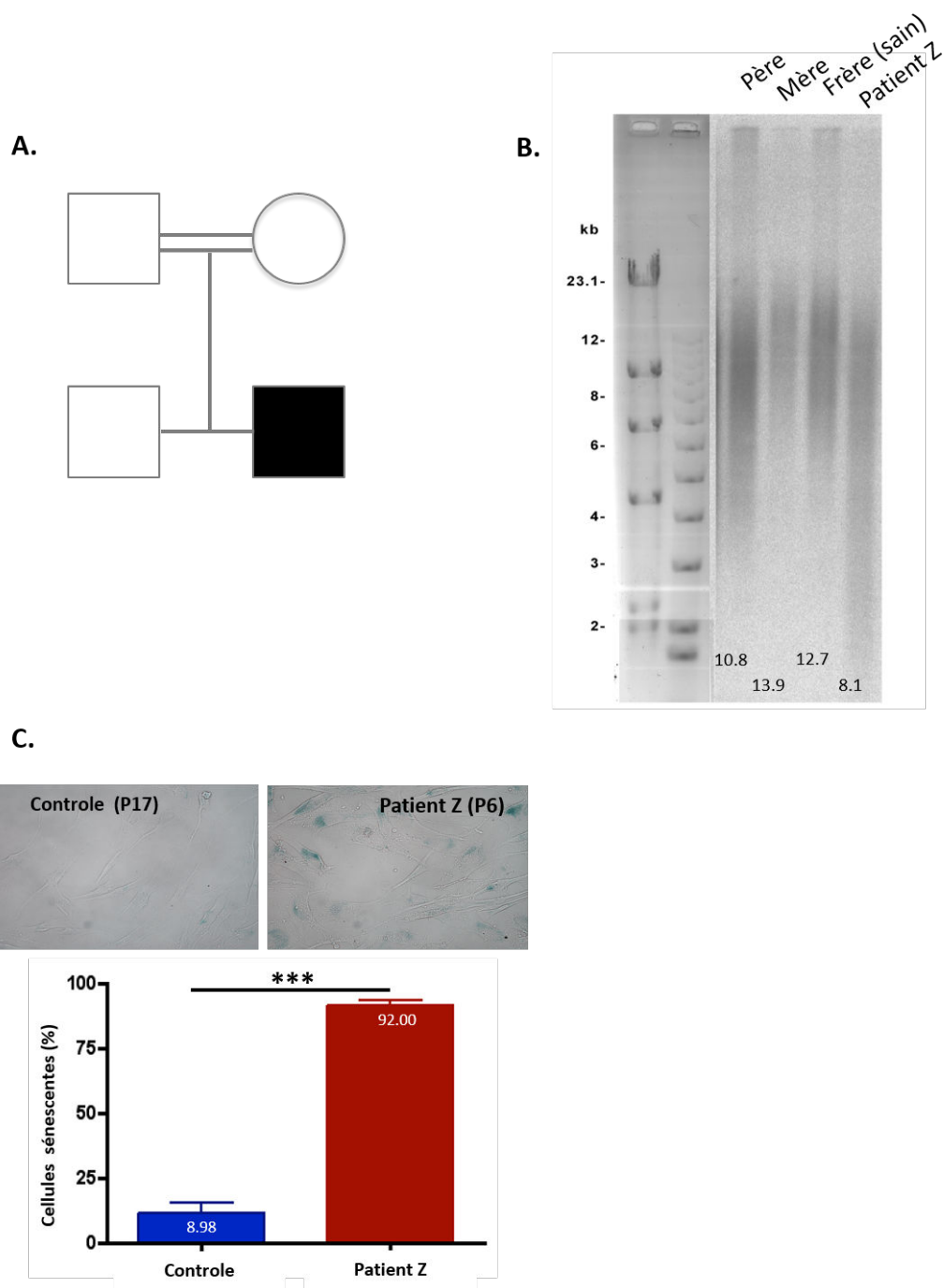


Figure 16 : Début de l'étude phénotypique du patient Z

(A.) Arbre généalogique du patient Z (représenté en noir) (B.) Mesure des télomères du patient Z et de sa famille par Western Blot à partir de prélèvements sanguins (C.) Mesure du niveau de sénescence par un test d'activité de la (beta) galactosidase au sein des fibroblastes primaires du patient Z et d'un contrôle sain.

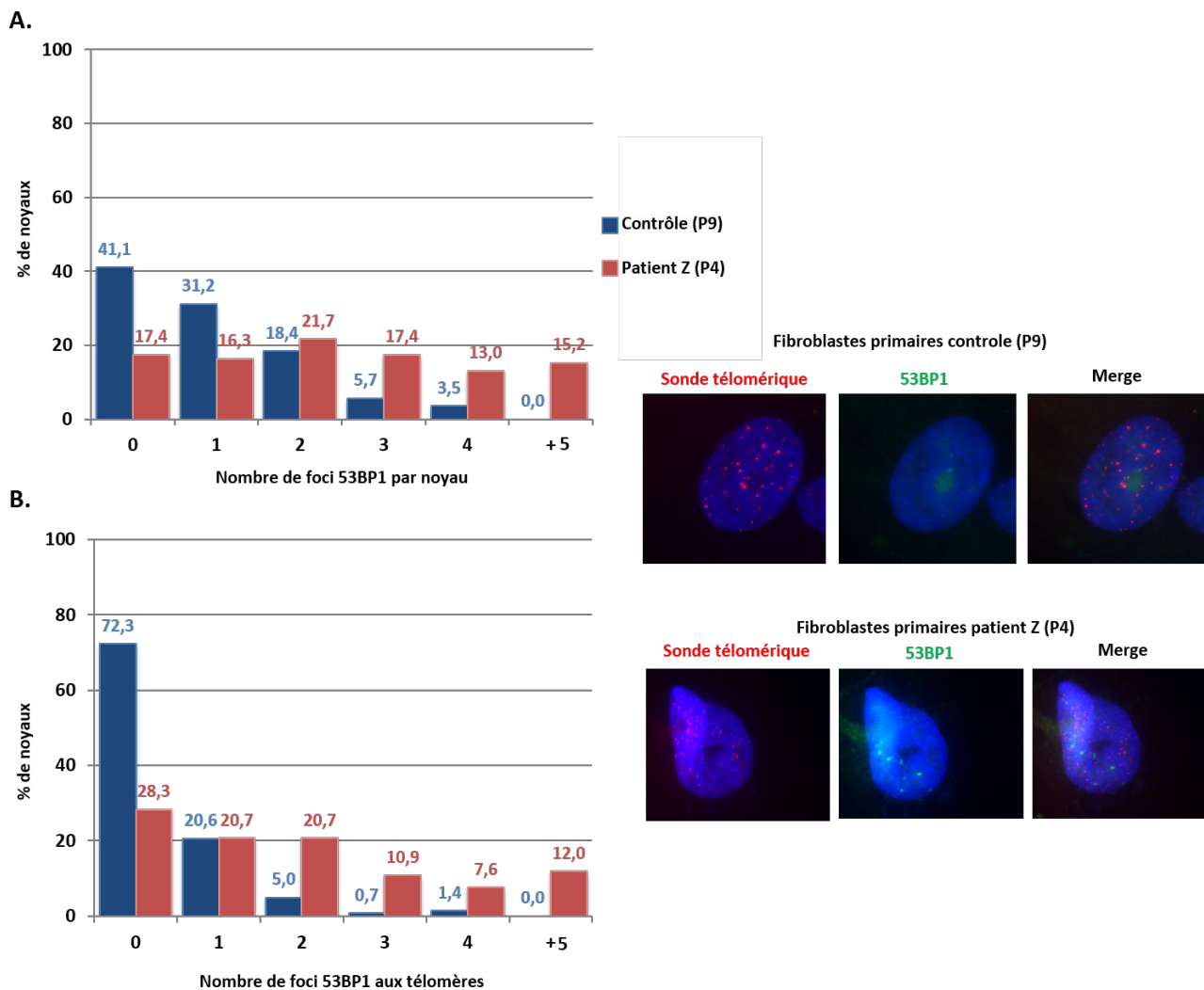


Figure 17 : Marquage TIF (telomere induced foci) dans les fibroblastes primaires du patient Z et d'un contrôle sain.

(A.) Représentation sous forme de graphiques du nombre de noyaux démontrant une absence ou présence (de 1 à 5 et plus) de foyers 53BP1 (point vert) au sein des fibroblastes primaires du patient Z et d'un contrôle sain (B.) Représentation sous forme de graphique du nombre de foyers 53BP1 (point vert), dénombrés dans le graphique précédent, colocalisant avec un marquage télomérique (point rouge). Cette expérience n'a pu être réalisée qu'une seule fois à cause de la difficulté de maintien en culture des cellules primaires du patient Z. (minimum de 120 noyaux comptés par condition).

Afin d'évaluer si la dysfonction télomérique révélée par la présence de TIFs s'accompagne d'aberrations télomériques, chez le patient Z, les fibroSV de ce dernier et d'un contrôle sain ont été soumis à un marquage FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) à l'aide d'une sonde télomérique, sur des étalements de chromosomes bloqués en métaphase. Les résultats de ces expériences ont démontré une augmentation faible mais statistiquement significative du nombre d'aberrations télomériques (Multi-telomeric signal, Sister telomere loss, ...) dans les fibroSV du patient Z, comparés à un contrôle sain (Figure 18).

Le raccourcissement des télomères observé chez ce patient semble donc s'accompagner d'une instabilité ou déprotection des télomères avec une activation de la DDR.

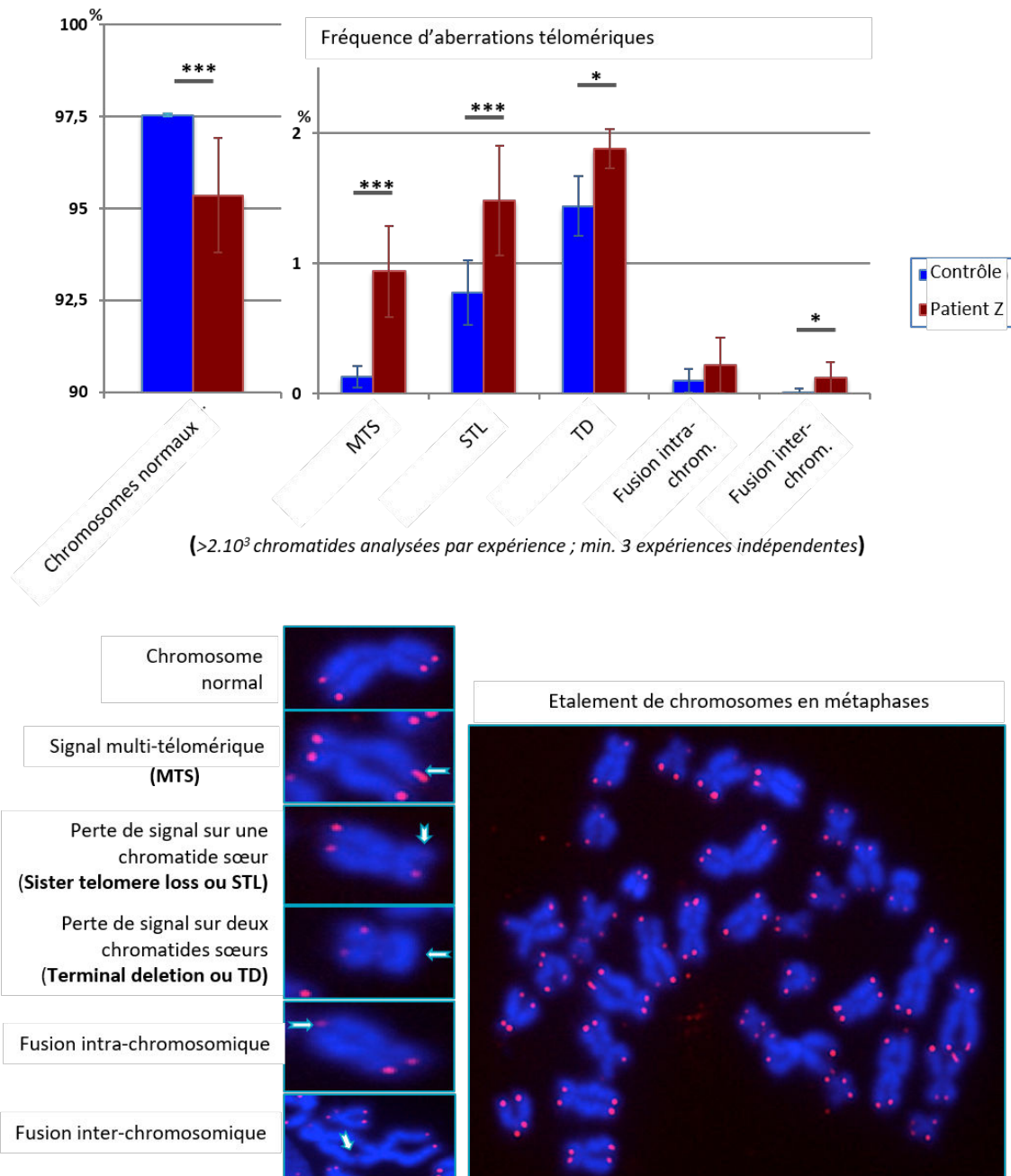
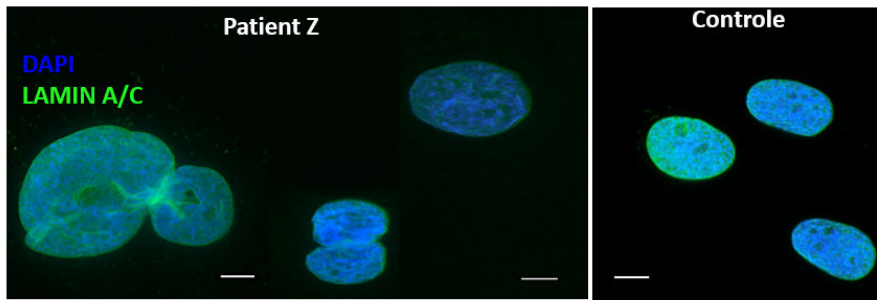


Figure 18 : Recherche d'aberrations télomériques sur un étalement de chromosomes en métaphases. Représentation graphique de la fréquence de chromosomes normaux et d'aberrations télomériques détectés sur un étalement de fibroSV bloqués en métaphases.

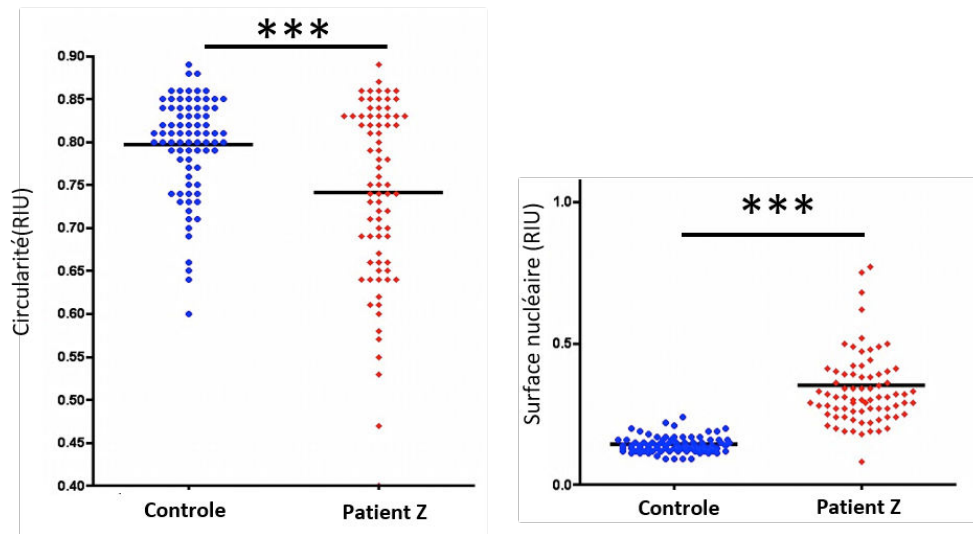
Anomalies nucléaires et lamina

Les expériences d'immunofluorescence, menées sur les cellules primaires du patient Z, ont permis d'observer des anomalies au niveau de leur structure nucléaire. En effet, les noyaux des fibroblastes primaires du patient Z, comparativement à des cellules d'individus sains, apparaissaient de taille augmentée et présentaient une circularité réduite avec la présence de bourgeonnements ou de structures binucléées (Figure 19A & B). Des anomalies de la structure nucléaire sont souvent associées à un phénotype de vieillissement accéléré comme observé dans le syndrome Hutchinson-Gilford (ou progeria). Une analyse en immunofluorescence avec marquage de la laminA/C a permis également de mettre en évidence que les noyaux des fibroblastes du patient Z étaient plus volumineux que ceux des cellules d'individus sains. Cette observation pouvant être causée par un changement du niveau de la compaction de l'ADN, une évaluation du niveau d'H3K9me3, marqueur de l'hétérochromatine, a été réalisée par Western Blot. L'extraction de lysats protéiques issus de fibroSV a permis de révéler une augmentation importante du niveau d'H3K9me3 chez le patient Z (Figure 19C). Une augmentation de cette marque hétérochromatinienne ne permet pas d'expliquer une augmentation de la surface nucléaire mais peut être associé à un état sénescence des cellules par la formation de SAHF (Senescence Associated Heterochromatin Foci) (Aird et Zhang 2013). Cependant, ces structures particulières de l'ADN sont généralement observables par marquage nucléaire au DAPI. Or aucune observation de ces structures n'a pu être faite après marquage des noyaux de fibroblastes du patient Z (Figures 17, 19 & 20). Ces données concernant l'état de la chromatine dans ces cellules sont encore difficilement interprétables.

A.



B.



C.

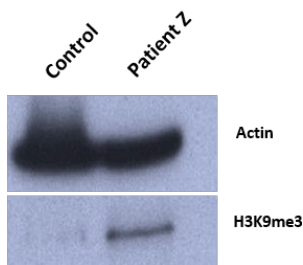


Figure 19 : Aberrations nucléaires et niveau d'hétérochromatine dans les cellules du patient Z

(A.) Images obtenues à partir d'un microscope confocal de noyaux de fibroblastes primaires du patient Z et d'un contrôle sain. Les noyaux sont marqués par le DAPI en bleu. Le marquage vert correspond à un marquage de la lamine A/C (B.) Représentation graphique de la circularité et surface nucléaire des noyaux de fibroblastes primaires du patient Z ou d'un contrôle sain. Les données représentées sont issues de plus de trois expériences indépendantes (C.) Western Blot réalisé à partir d'extraits protéiques provenant de fibroSV du patient Z et d'un contrôle sain démontrant le niveau d'H3K9me3 de ces cellules.

Tétraploïdie et problèmes de division cellulaire des fibroSV du patient Z

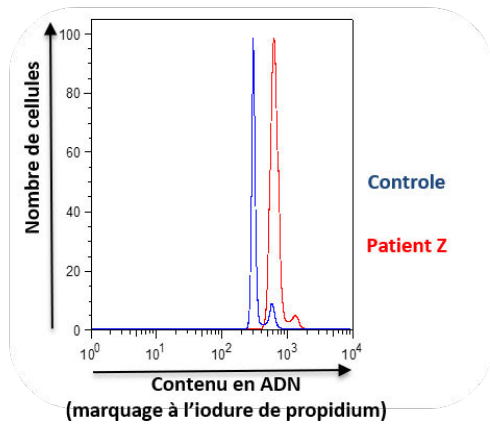
La surface des noyaux des fibroblastes du patient Z est plus importante que chez un contrôle sain. Afin de savoir si la taille particulière des noyaux des cellules du patient Z pouvait être associée à une phase particulière du cycle cellulaire, un marquage à l'iodure de propidium, suivi par une analyse de cytométrie en flux (FACS), a été réalisée. Étonnamment, celle-ci a révélé un profil au FACS suggérant une quantité d'ADN dans les fibroblastes primaires et fibroSV du patient Z deux fois supérieure à ce qui est observé dans les cellules d'individus sains (Figure 20A). Il est important de noter que cette observation a été réalisée sur deux lignées fibroblastiques primaires issus de 2 biopsies cutanées indépendantes du patient, excluant une dérive d'une lignée cellulaire particulière. Afin de déterminer si cette augmentation de la quantité d'ADN nucléaire pouvait être due à une potentielle duplication du génome au sein de ces cellules (comme observé lors d'endoréplication ou de défaut de cytokinèse), un marquage par FISH en utilisant des sondes centromériques ciblant les centromères des chromosomes 7 et 8, a été réalisé. Le but de ce marquage est de vérifier si les cellules testées présentent deux (phase G1) ou quatre (phase S/G2) signaux pour chaque chromosome. Un nombre impair de signaux signifierait une aneuploïdie au sein de ces cellules. De façon surprenante cette analyse, réalisée dans les fibroblastes primaires et fibroSV du patient Z et d'un contrôle sain, a révélé une tétraploïdie dans les cellules du patient Z (Figure 20B & C).

Afin de savoir si cette tétraploïdie anormale pourrait être causée par des anomalies mitotiques, les fibroSV du patient et d'un contrôle sain ont été transduits par un lentivirus permettant l'expression de l'histone H2B couplée à un fluorophore (mCherry). Des acquisitions d'images à intervalles réguliers sur une période de 42 heures ont ensuite été réalisées sur ces cellules grâce à un système de microscopie à fluorescence couplé à une chambre thermostatée et régulée en CO₂ (5%) (Figure 21). Le résultat de cette expérience a permis d'observer des phases de condensation de l'ADN sous forme de chromosomes métaphasiques dans les noyaux du contrôle sain. Cette condensation est alors suivie de la séparation des chromosomes condensés menant à la formation des deux noyaux de taille équivalente révélant une cytokinèse efficace. Ces résultats obtenus chez le contrôle sain correspondent au déroulement normal de la mitose (Mackay, Ullman, et Rodesch 2010). En revanche, dans les cellules du patient Z, aucune condensation de l'ADN sous forme de chromosomes métaphasiques n'a pu être observée. L'ADN semble se scinder en deux

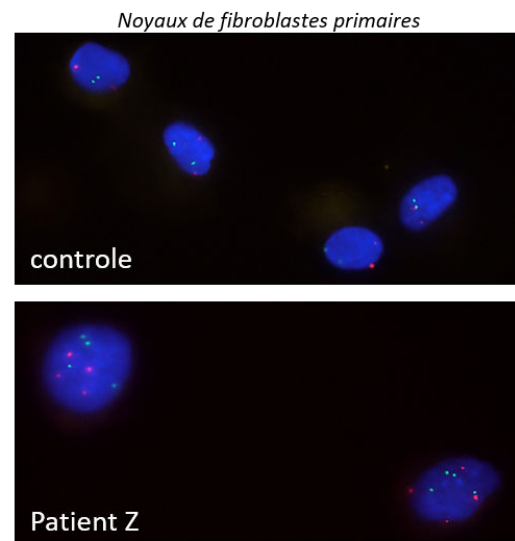
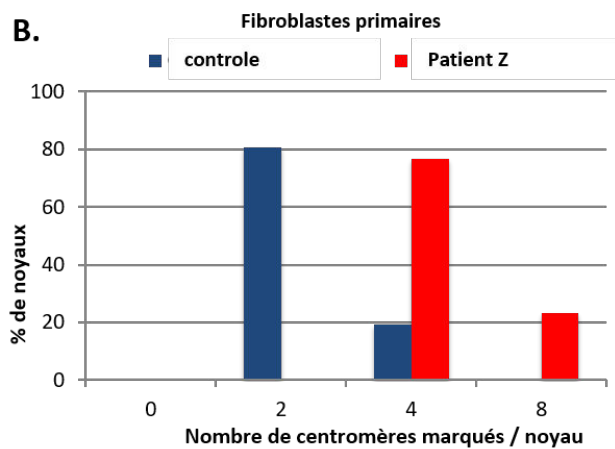
sans condensation, avant de se regrouper et donner naissance à un noyau unique plus volumineux (Figure 21). En raison des difficultés inhérentes à la mise en place d'une expérience d'imagerie de cellules vivantes sur un temps aussi long (perte de focus, mouvement des cellules, ...), des résultats exploitables n'ont pu être obtenus que lors du troisième et dernier essai mené sur ces échantillons. Il faudra donc prendre en compte que cette expérience n'a pu être réalisée, de manière analysable, qu'une seule fois. Aussi, une optimisation plus poussée des paramètres d'imagerie, permettant un comptage et une calibration des noyaux, n'a pu être réalisée.

L'ensemble de ces observations semble décrire un phénomène d'endoréduplication ou de problème de cytokinèse, observé dans certains cas d'effondrement télomérique (Davoli, Denchi, et de Lange 2010a).

A.



B.



C.

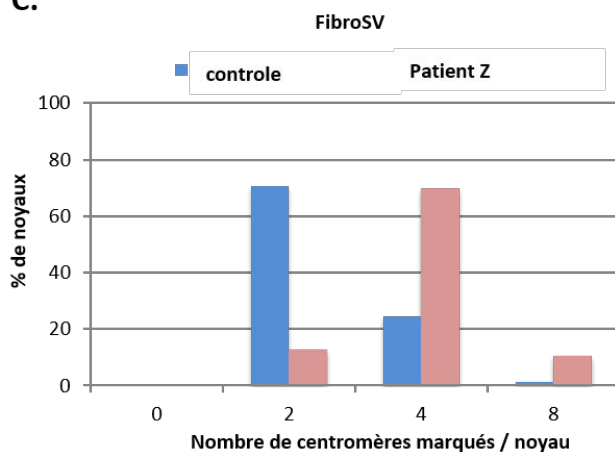


Figure 20 : Evaluation de la ploïdie au sein des fibroblastes du patient Z

(A.) Analyse par cytométrie en flux d'un marquage à l'iodure de propidium (quantité d'ADN par noyau) des fibroblastes primaires du patient Z et d'un contrôle sain (B.) Représentation graphique du nombre de centromères du chromosomes 7 et 8 détectés par un marquage FISH (sonde centromérique) au sein des fibroblastes primaires du patient Z et d'un contrôle sain. Images prises via un microscope confocale illustrant le marquage obtenu dans ces cellules. Les

points rouges et verts correspondent respectivement au centromère des chromosomes 7 et 8. L'ADN est marqué en bleu (DAPI) (C.) Même marquage FISH des centromères des chromosomes 7 et 8 réalisé dans les fibroSV du patient z et d'un contrôle sain.

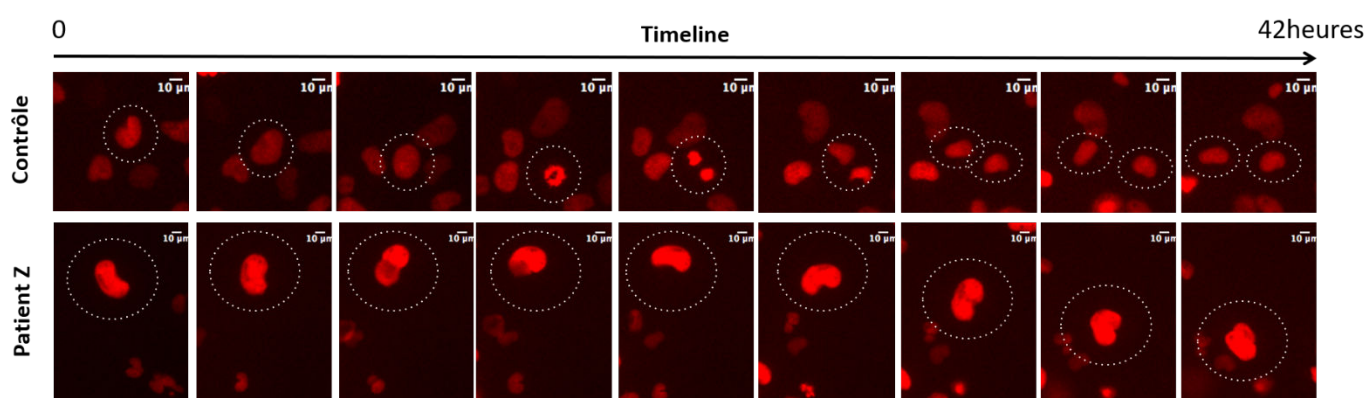


Figure 21 : Vidéo microscopie appliquée à la caractérisation de la division cellulaire des fibroSV du patient Z et d'un contrôle sain.

Observation, sur une période de 42heures, des noyaux de fibroSV du patient Z et d'un contrôle sain marqué par expression stable de l'histone H2B couplée à un fluorophore (mCherry). Les images ont été acquises à intervalle régulier via un vidéo microscope Zeiss. L'expérience a été réalisée une seule fois.

Sensibilité aux agents génotoxiques des fibroblastes transformés du patient Z

Certains facteurs de la DDR sont impliqués dans la biologie des télomères et certains TBD peuvent alors s'accompagner de défauts des voies de réparation de l'ADN (D. K. Singh et al. 2012; Fontana et al. 2018). Les fibroSV du patient Z ont donc été soumis à des tests de sensibilité à la MMC et à la phléomycine, afin d'observer si la dysfonction télomérique était accompagnée de défauts de réparation de l'ADN. Aucune augmentation de la sensibilité, dans les fibroSV du patient Z, n'a été observée après traitement à la phléomycine. Cependant, les résultats de ces tests ont révélé une hypersensibilité des fibroSV du patient Z au traitement à la MMC. Le phénotype du patient semble donc associer un défaut de régulation des télomères, une anomalie de la division cellulaire et un défaut de réparation des ICL (Figure 22).

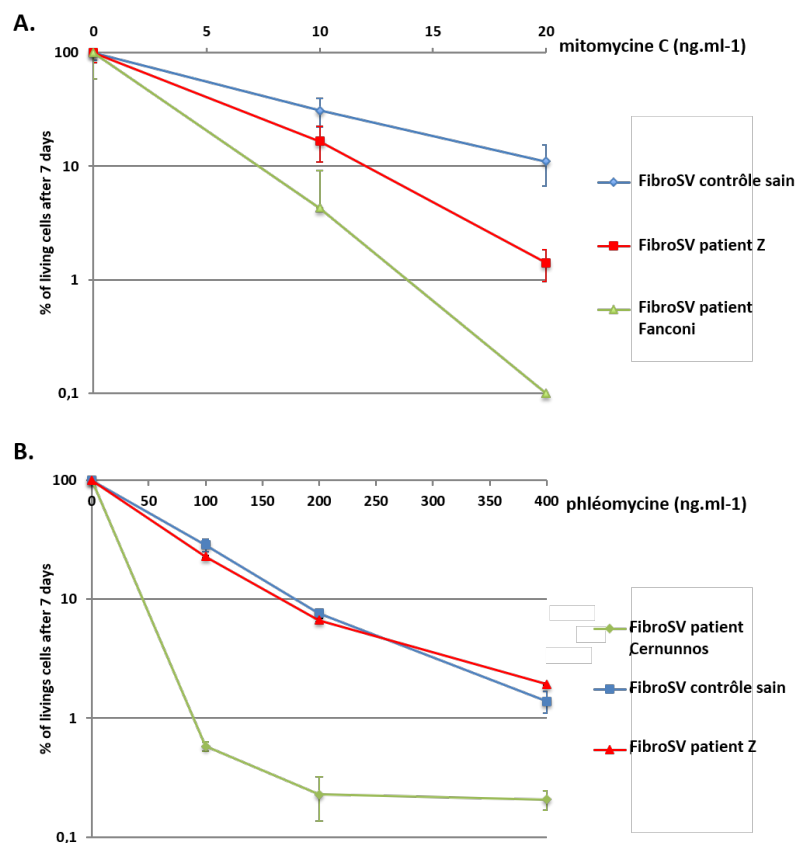


Figure 22 : Tests de sensibilité des fibroSV du patient Z à la MMC et phléomycine

(A.) Test de sensibilité après traitement à la MMC des fibroSV du patient Z (B.) Test de sensibilité après traitement à la phléomycine des fibroSV du patient Z. Chaque expérience a été réalisée un minimum de 3 fois et chaque point d'un graphique représente la moyenne d'un triplicat.

Obtention d'une lignée B-EBV à partir de lymphocytes B du patient Z

Après plusieurs tentatives infructueuses sur près de deux ans, le laboratoire a pu recevoir une lignée B-EBV issue du patient Z. La transformation de lymphocytes B par l'EBV (Epstein Barr Virus) permet une prolifération plus importante de ces cellules et équivaut à une transformation des fibroblastes par LTSV40. Les lymphocytes B conservent une activité télomérase (Weng, Granger, et Hodes 1997) et sont donc considérés comme immortalisés après transformation par l'EBV (Frappier 2012; Price et Luftig 2014).

La ploïdie de ces cellules a été testée par marquage à l'iodure de propidium et analysée par cytométrie en flux. Le résultat de ces analyses a démontré un degré de ploïdie normal des B-EBV du patient Z (Figure 23A). Cependant une analyse du cycle cellulaire de ces cellules via incorporation de BrDU a révélé une diminution de moitié du nombre de cellules en phase S, comparée à un contrôle sain (Figure 23B). La polyploïdie observée dans les fibroblastes de ce patient semble donc être spécifique à ce type cellulaire. Enfin, bien que présentant une ploïdie normale, les B-EBV du patient Z démontrent une altération de leur cycle cellulaire avec une phase S moins importante que chez un contrôle sain.

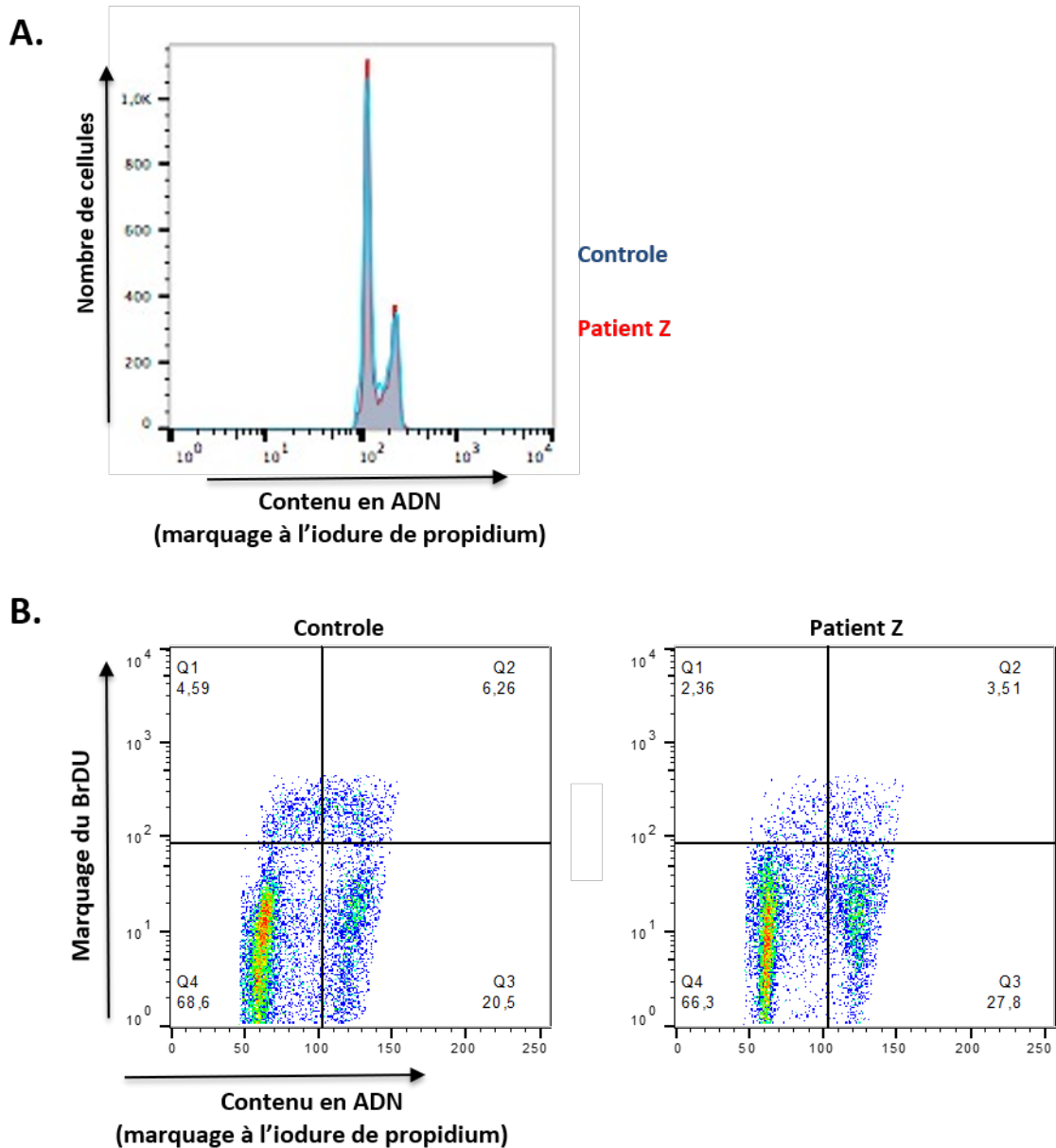


Figure 23 : Caractérisation de la ploïdie et du cycle cellulaire dans les B-EBV du patient Z

(A.) Analyse par cytométrie en flux d'un marquage à l'iodure de propidium (quantité d'ADN par noyau) des B-EBV du patient Z et d'un contrôle sain (B.) Analyse par cytométrie en flux du cycle cellulaire (incorporation de BrDU) des B-EBV du patient Z et d'un contrôle sain.

Recherche d'un facteur génétique impliqué dans la pathologie du patient Z

La recherche d'un facteur génétique impliqué dans la pathologie du patient Z a été réalisée au cours de cette thèse par cartographie d'exome complet (Whole Exome Sequencing) couplée à une recherche d'homozygotie (Whole Genome Homozygosity Mapping). La recherche de variants génétiques rares, homozygotes (car le patient est issu d'une famille consanguine) et prédits comme délétères a permis d'identifier deux gènes candidats : ZNF699 et TRIM46. Le variant affectant TRIM46 est une mutation faux sens c.del302G. La mutation affectant le gène ZNF699 est une délétion d'une paire de base en position 1421 (del.1421A) provoquant un décalage du cadre de lecture et un codon stop prématuré (Figure 24A & B). Cette dernière mutation semblant plus drastique a été privilégiée pour la poursuite de ce projet. L'analyse par séquençage Sanger a confirmé la présence de cette mutation et révélé que les parents et le frère sain du patient sont porteurs hétérozygotes de cette mutation et celle-ci est donc héritée de manière autosomique récessive (Figure 24A). Le gène *ZNF699* se trouve sur le chromosome 19 et code une protéine de 642 acides aminés appelée ZNF699 (Figure 24B).

La protéine ZNF699 est composée d'un domaine KRAB (Kruppel associated box domain), proche de son extrémité N-terminale, suivi d'un enchainement de « doigts de zinc » ou zinc fingers. Les « zinc fingers » sont des domaines particuliers. Chaque doigt de zinc possède une affinité pour une suite déterminée de trois nucléotides. Un enchainement de doigts de zinc possède donc une affinité pour une séquence ADN plus longue et plus spécifique (A. Klug 2010). Les protéines constituées d'un domaine KRAB et d'un enchainement de doigts de zinc forment la plus grande famille de régulateurs de la transcription chez les vertébrés (Ecco, Imbeault, et Trono 2017). En ce qui concerne ZNF699, aucune information concernant sa fonction ou ses interactions n'est décrite dans la littérature. En revanche, certaines protéines à « doigts de zinc » comme ZSCAN4 (K. Lee et Gollahon 2014), ZNF637 (B. Gao et al. 2014) ou ZBTB48 (Jahn et al. 2017) possèdent une interaction avec les télomères. Il faut également ajouter TZAP qui a récemment été décrit comme un régulateur de longueur des télomères (J. S. Z. Li et al. 2017). C'est pourquoi ZNF699, possédant une capacité d'interaction avec l'ADN via ses « doigts de zinc », a été sélectionné comme candidat fort pour la suite de ce projet.

Le niveau d'expression de *ZNF699* a été évalué par qRT-PCR, au sein de différents tissus humains, afin de savoir si le patron d'expression de ce gène était compatible avec les anomalies observées chez le patient Z (Figure 24C). Les résultats ont démontré une présence importante de transcrits *ZNF699* au sein du cervelet et du cerveau fœtal. Une expression de *ZNF699* est aussi retrouvée dans des tissus hématopoïétiques comme la rate et le thymus ainsi que d'autres organes comme les gonades (testicules et ovaires) ou les poumons. Ce schéma d'expression semble compatible avec les tissus affectés chez le patient Z (ataxie du cervelet, immunodéficience, ...) et permettait de conserver *ZNF699* comme étant un gène candidat fort, pouvant être à l'origine de la pathologie du patient Z.

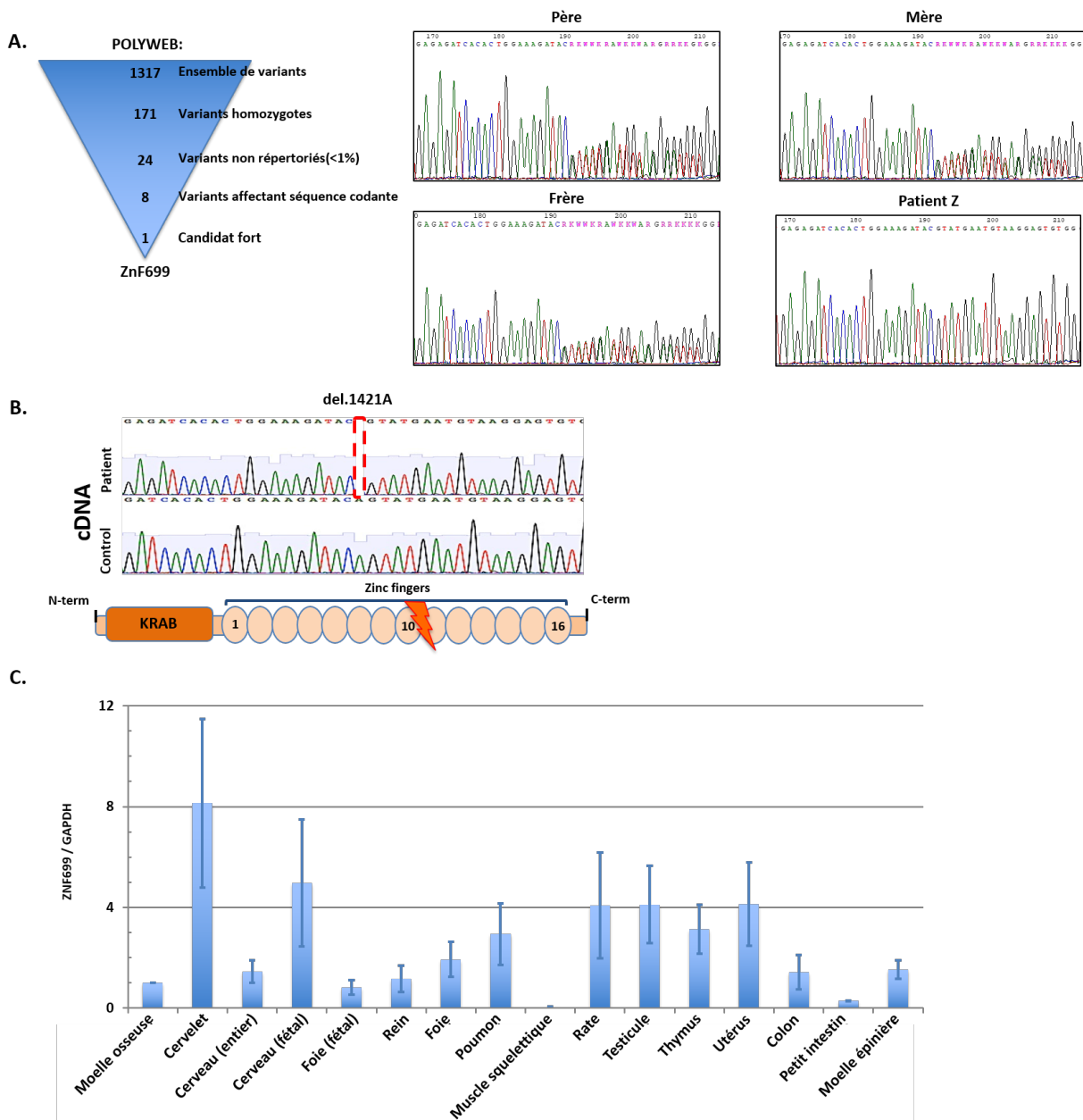


Figure 24 : Recherche d'un facteur génétique et sélection de ZNF699

(A.) Recherche d'un gène candidat fort par cartographie du génome complet et recherche d'homozygotie. Vérification de la présence de la mutation chez le patient Z et sa famille (père, mère et frère) par séquençage direct de l'ADNg issu de prélèvements sanguins (B.) Représentation de la délétion homozygote identifiée chez le patient Z en comparaison d'une séquence WT du gène *ZNF699*. Représentation schématique de la protéine ZNF699 et de la position de la mutation sur celle-ci (C.) Niveau d'expression du gène ZNF699, évalué par qPCR, dans différents tissus humains. Le niveau d'expression du gène *ZNF699* a été normalisé par rapport à celui du gène de la GAPDH.

Impact de la mutation del.1421A sur ZNF699

La mutation homozygote del.1421A portée par le patient Z, mène à l'apparition d'un codon stop prématuré. Afin d'évaluer l'effet de cette mutation sur la protéine ZNF699, le niveau d'expression du gène ZNF699 a été étudié tout d'abord par PCR semi quantitative (Figure 25A), puis par qPCR (Figure 25B). Ces deux techniques ont ainsi révélé un niveau de transcrits plus important pour le gène ZNF699 portant la mutation del.1421A. Celui-ci ne semble donc pas subir de dégradation de l'ARNm par effet NMD (nonsense mediated decay).

Ensuite, une évaluation de l'expression protéique, au sein des fibroSV du patient Z et d'un contrôle sain, a été réalisée par Western Blot. La mutation del.1421A se trouvant entre les domaines à doigts de zinc 10 et 11, une forme tronquée de la protéine pourrait être exprimée. Celle-ci se retrouverait alors amputée de ses six derniers domaines à doigts de zinc. Les résultats obtenus par Western Blot (Figure 25C) avec un anticorps dirigé contre la partie N-terminale de la protéine semble confirmer cette hypothèse. En effet, dans le cas du patient Z, une bande supplémentaire est observable au niveau de 55kDa, correspondant ainsi à la protéine tronquée ZNF699 manquant ses six derniers domaines à doigts de zinc ou $\Delta 699$. Malheureusement, des bandes aspécifiques sont détectées par l'anticorps anti-ZNF699 employé au niveau de la forme sauvage de ZNF699. En effet, une bande au niveau de 70kDa, correspondant normalement à la taille de ZNF699 WT, est détectable à la fois chez le patient Z et chez le contrôle sain. La bande chez le contrôle sain est plus intense que celle observée chez le patient Z laissant supposer que celle-ci contient à la fois un signal de bruit de fond et le signal spécifique de la protéine ZNF699 WT. La bande obtenue pour le patient Z correspondrait ainsi uniquement à du bruit de fond. Il est intéressant de noter que la bande de taille inférieure observée chez le patient Z est plus intense que la bande correspondant à du bruit de fond et à ZNF699 WT chez le contrôle sain. Cette différence d'intensité d'expression semble ainsi corrélée avec une augmentation du nombre de transcrit pour $\Delta 699$, détectée dans les expériences précédentes.

Afin de s'assurer de l'efficacité de l'anticorps anti-ZNF699, des vecteurs d'expression ont été développés, permettant d'exprimer de façon transitoire une forme WT ou mutée de ZNF699 couplée avec un tag Flag. Ces différents vecteurs ont été transfectés au sein de cellules U2OS et des lysats protéiques ont ensuite été récupérés pour analyse par Western Blot. Les résultats de ce

Western Blot démontrent que l'anticorps anti-ZNF699 détecte bien la forme WT de ZNF699, mais également la forme tronquée $\Delta 699$. En effet, les bandes observées corrèlent parfaitement avec les bandes obtenues en utilisant un anticorps anti-Flag sur les mêmes extraits protéiques (Figure 25D).

En parallèle du développement des vecteurs d'expression ZNF699-Flag et $\Delta 699$ -Flag, un vecteur permettant l'expression de ZNF699-GFP a été développé. Ces différents vecteurs ont alors été utilisés afin d'étudier la localisation cellulaire de ZNF699 et $\Delta 699$. Des expériences d'imagerie sur cellules non-fixées, exprimant de manière transitoire ZNF699-GFP, ont permis d'observer sa localisation nucléaire (Figure 26A). Des expériences d'immunofluorescence avec un marquage anti-Flag, sur des cellules exprimant de manière transitoire ZNF699-Flag ont également révélé une localisation nucléaire de la protéine.

Enfin, et de manière intéressante, des expériences d'immunofluorescence similaires, réalisées avec $\Delta 699$ -Flag, ont démontré que la mutation du patient Z n'affecte pas la localisation de la protéine au niveau du noyau.

La poursuite de cette étude devrait permettre de valider (ou non) l'implication de ZNF699 dans le phénotype du patient (voir discussion ci dessous).

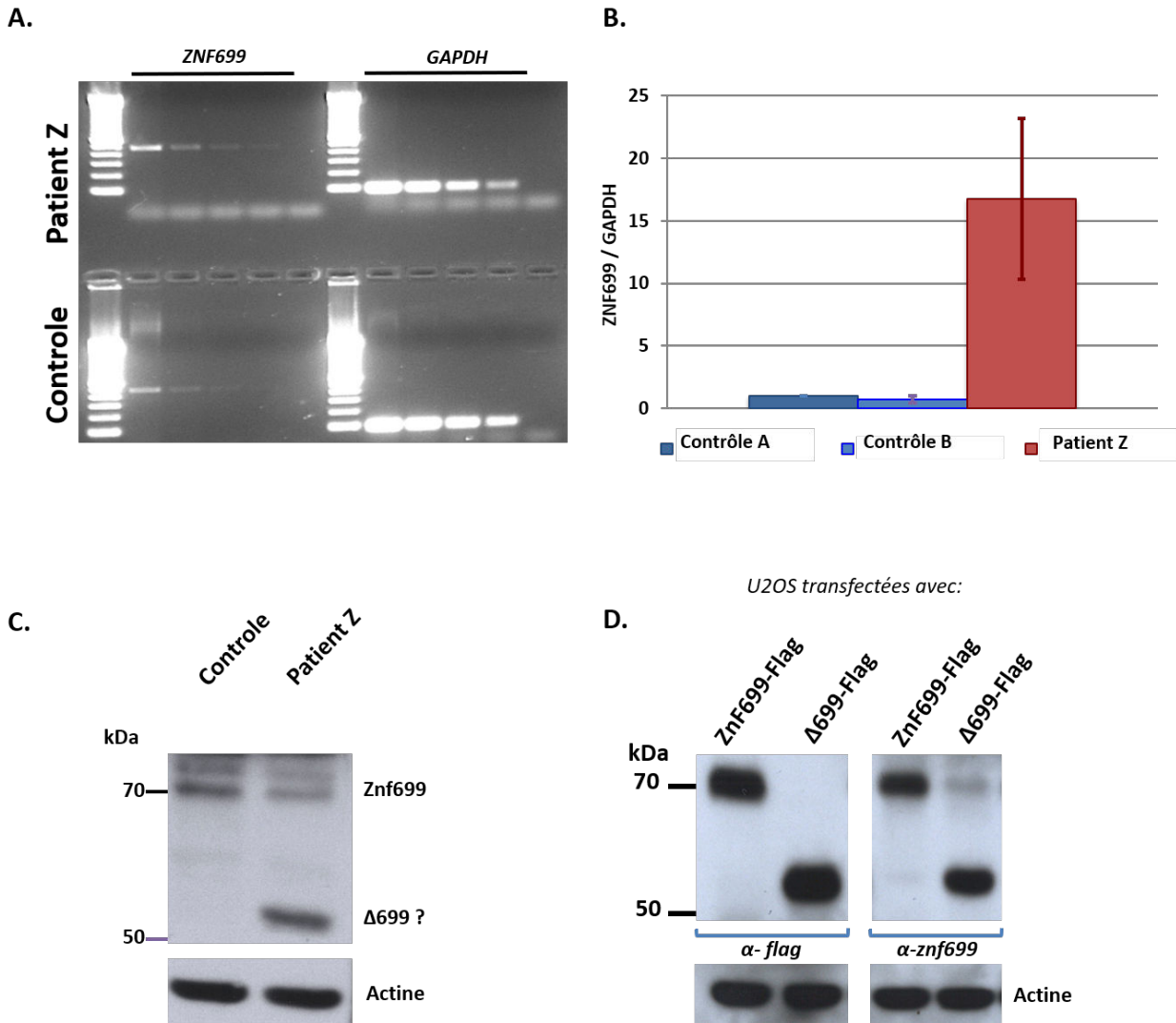


Figure 25 : Effet de la mutation del.1421A sur la protéine ZNF699

(A.) Semi Q RT-PCR réalisée sur de l'ADNc issu de fibroSV du patient Z et d'un contrôle sain. L'amplification de transcrits du gène codant pour la GAPDH permet de normaliser de manière qualitative la présence de transcrits pour le gène ZNF699 chez le patient et le contrôle sain (B.) Niveau d'expression du gène ZNF699 dans des fibroSV du patient Z et de contrôle sains, par rapport au niveau d'expression du gène codant la GAPDH. Les résultats présentés ici sont une moyenne de trois expériences réalisées de manière indépendantes (extractions d'ADNc) (C.) Western Blot réalisé à partir d'extraits protéiques issus de fibroSV du patient Z et d'un contrôle sain, démontrant le niveau d'expression de ZNF699 ou Δ699 (D.) Western Blot réalisé à partir d'extraits protéiques issus de cellules U2OS exprimant de manière transitoire ZNF699-Flag ou Δ699-Flag.

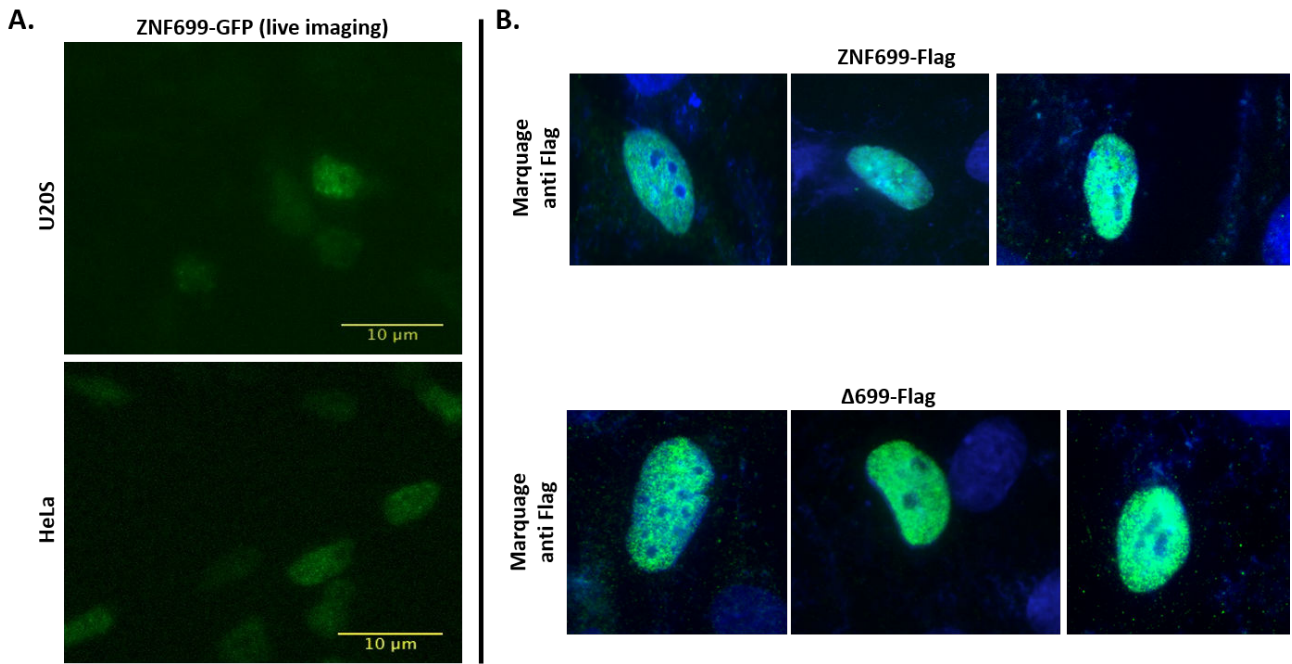


Figure 26 : Observation de ZNF699 et Δ699 par microscopie confocale

(A.) Observation de la localisation cellulaire de ZNF699-GFP dans des cellules non fixées (U2OS et HeLa) via microscopie confocale. Les cellules ont été transfectées afin d'exprimer transitoirement ZNF699-GFP (B.) Observation de la localisation de ZNF699-Flag et Δ699-Flag au sein de cellules HeLa, par marquage d'immunofluorescence anti-Flag. Les cellules HeLa ont été transfectées pour exprimer aléatoirement ZNF699-Flag et Δ699-Flag.

Troisième partie: [Discussion]

PARTIE III.1 : [Etude du rôle de MYSM1 dans la réparation de l'ADN]

MYSM1 et régulation transcriptionnelle

Comme présenté dans le chapitre 4 de l'Introduction, MYSM1 possède un rôle de régulateur de la transcription important qui a été largement décrit dans de nombreuses publications ces dernières années. Ce facteur est essentiel pour l'expression de gènes requis dans le développement et maintien du système hématopoïétique, mais également dans le développement du tissu osseux ou le maintien des cellules souches de la peau. Cette activation de la transcription s'effectue via l'activité déubiquitineuse de MYSM1, en ciblant H2AK119ub. Durant ce processus, MYSM1 interagit avec différents partenaires comme des facteurs de transcription ou d'autres facteurs comme pCAF ciblant les histones, et entraîne une relaxation de la chromatine par un changement des MPT d'histones (déubiquitination et acétylation) et un changement de conformation du nucléosome (détachement de l'histone liante H1).

MYSM1 possède aussi une seconde fonction dans la régulation de la transcription. Alors que celui-ci est nécessaire pour activer la transcription de certaines gènes spécifiques, il est paradoxalement responsable d'une inhibition de la transcription des gènes cibles de p53 (*p21*, *Cdkn1*, ...). En se liant avec p53 au niveau des promoteurs de ces gènes, MYSM1 bloque leur transcription et donc l'activation de la voie p53. Cette action antagoniste visant p53 se retrouve également dans l'inhibition de l'expression du facteur p19^{ARF}, antagoniste de MDM2 et permettant la stabilisation de p53 au sein du noyau.

MYSM1 possède ainsi deux rôles opposés dans la régulation de la transcription. Cette dualité de fonction vis-à-vis de la régulation transcriptionnelle a déjà été observé pour des complexes remodeleurs de la chromatine, comme le complexe SWI/SNF (Kaeser et al. 2008). Il est intéressant de souligner que les interactions et actions, permettant à MYSM1 de favoriser la transcription d'un gène, sont en partie déjà décrites (relaxation de la chromatine par dissociation de l'histone H1), mais que les mécanismes menant à une répression transcriptionnelle sont toujours inconnus.

Interaction entre MYSM1 et p53

Il est important de souligner la similarité des phénotypes murins et humains issus d'une déficience en MYSM1. Les phénotypes immunologiques entre autres sont particulièrement proches. L'immunodéficience observée chez l'Homme ou la souris peut s'expliquer en premier temps par un état pro apoptotique des cellules déficientes en MYSM1, dû à une stabilisation de p53 ; et dans un second temps, par une perte d'homéostasie ou un défaut de différenciation de certaines lignées hématopoïétiques, due à une dérégulation transcriptionnelle ne permettant plus l'expression de facteurs de transcriptions essentiels à la différenciation cellulaire. Il est important de préciser ici que l'instabilité génétique relevée dans les CSH des souris MyKO ou des patients déficients en MYSM1, sous la forme d'une augmentation spontanée des niveaux de pH2A.X, peut s'expliquer par une perte de quiescence de ces cellules (X. F. Huang et al. 2016), et une activation anormale de la voie p53 (Rodier et al. 2011). Bien sûr, cette instabilité génétique pourrait également être expliquée par l'accumulation de dommages spontanés à l'ADN, causée par un défaut de la DDR. Or aucune augmentation des niveaux de pH2A.X n'a été observée dans les MEFs de souris MyKO (Nijnik et al. 2012), et aucune activation spontanée de la DDR sous forme de foci 53BP1 n'a été relevée dans les fibroblastes primaires du patient M. Cette hypothèse semble donc moins probable.

Il est intéressant de noter que certains défauts développementaux chez l'Homme, comme des déformations crâniofaciales, des malformations cardiaques ou une atrésie des choanes, se rapprochent de défauts observés dans le syndrome de CHARGE, caractérisé par une suractivation de p53 (Van Nostrand et al. 2014). Il faut cependant noter que l'augmentation des niveaux cellulaires de p53 a été décrite au sein de cellules démontrant une activité importante de MYSM1 sur le plan transcriptionnel. En revanche, les analyses transcriptomiques réalisées dans les fibroblastes primaires du patient M ou réalisées dans des MEFs MyKO (Nijnik et al. 2012) n'ont démontré aucune dérégulation importante de gènes au sein de ces cellules. De plus, aucune suractivation de la voie p53 n'a été démontrée à l'heure actuelle dans ces cellules.

Enfin, la complémentation phénotypique retrouvée dans la souris doublement déficiente en MYSM1 et p53, ne signifie pas que les défauts observés chez la souris MyKO sont uniquement dus à la suractivation de la voie p53. Il est important, dans ce cas précis, de ne pas confondre une restauration des fonctions cellulaires normales avec une viabilité synthétique causée par une extinction des voies apoptotiques.

Défaut de MYSM1 et défaut de la DDR

La possibilité d'une instabilité génétique au sein des cellules MYSM1 déficientes a été évoquée précédemment avec une augmentation des niveaux de p_{H2A}.X dans les CSH de patients (Bahrami et al. 2017) ou de modèles murins MyKO (Nijnik et al. 2012; Belle et al. 2015). Cependant, cette instabilité ne se retrouve pas dans tous les types cellulaires étudiés, comme les fibroblastes par exemple. En effet, les expériences d'immunomarquage menées dans les fibroblastes primaires du patient M n'ont démontré aucune activation spontanée de la DDR.

Les caractéristiques phénotypiques d'un défaut de MYSM1 chez l'homme ou chez la souris, sous la forme d'une immunodéficiences sévère combinée à des défauts développementaux et une microcéphalie, se rapprochent fortement de phénotypes cliniques associés à un défaut de la DDR (Ligase4, Cernunnos, NBS, Hebo). Les travaux présentés ici démontrent clairement un défaut de la DDR au sein des cellules du patient M avec une hypersensibilité face aux inhibiteurs de PARP, à la MMC et à la phléomycine. Une hypersensibilité aux UV a également été observée par Bahrami et al. en 2017, dans des fibroblastes de patients MYSM1. De façon intéressante, les travaux présentés dans cette thèse ont permis de mettre en évidence un défaut de réparation des CDB, au sein de cellules murines déficientes en MYSM1, avec une hypersensibilité de MEFs MyKO à la phléomycine. Ces observations suggèrent alors un lien entre défaut de MYSM1 et défaut de réparation de dommages à l'ADN. Celles-ci sont renforcées par l'observation d'une sensibilité accrue à la MMC et phléomycine au sein de modèles cellulaires humains (RPE1) déficients en MYSM1, générés par CRISPR/Cas9 qui sont par ailleurs complétés par l'expression ectopiques de wtMYSM1.

En 2014, les résultats d'un screen fonctionnel, mené sur approximativement 80 déubiquitinases (dont MYSM1) ont été publiés (Nishi et al. 2014). Ce screening a été réalisé dans le but d'identifier de nouvelles DUBs potentiellement impliquées dans la réparation de l'ADN. De façon troublante, ces travaux, réalisés au sein de cellules U2OS, ont décrit MYSM1 comme un des facteurs recrutés aux sites de dommages à l'ADN après microirradiation laser. Par ailleurs les auteurs ont observé dans un premier temps une sensibilité accrue à un traitement par la phléomycine, de cellules déplétées en MYSM1 via siARN. Cependant, dans ce même article, des tests plus fins n'ont pas permis de confirmer l'hypersensibilité des cellules déplétées en MYSM1 et observée dans les premiers résultats. Cet article n'a donc pas permis d'établir un lien formel entre un défaut en MYSM1 et un défaut de réparation de l'ADN. Cette variabilité de la sensibilité aux agents génotoxiques des cellules déficientes en MYSM1 ressemble fortement aux résultats obtenus durant cette thèse sur des cellules U2OS ou fibroSVtel+ MyKO. La variabilité des résultats obtenus

dans ces modèles, après traitement à la MMC ou phléomycine, pose une fois de plus la question d'une viabilité synthétique due à l'absence d'une voie p53 fonctionnelle dans ces cellules. Une autre hypothèse à envisager est une fonction de MYSM1 dans la DDR dépendante du cycle cellulaire, ou de la présence (ou absence) de certains facteurs encore inconnus.

Implication directe de MYSM1 dans la DDR

Le recrutement de MYSM1 aux sites de dommages à l'ADN, décrit par Nishi et al, est en corrélation avec les résultats obtenus au cours des expériences de microirradiation laser réalisées au cours de ce travail de thèse. Ces résultats ont ainsi encouragé la poursuite de ce projet.

Comme expliqué, les résultats obtenus lors des expériences de microirradiation laser ont permis de démontrer le recrutement de MYSM1 aux sites de dommage puis à la périphérie d'une CDB. De plus, la cinétique de recrutement de MYSM1 affiche une vitesse de recrutement équivalente à celle de NBS1, acteur précoce de la réparation des CDB. Ces observations suggèrent, de manière forte, un rôle direct pour MYSM1 dans la DDR. Cette hypothèse est également renforcée par les analyses transcriptomiques menées au sein des fibroblastes primaires du patient M. En effet, aucune dérégulation transcriptionnelle n'a été observée après traitement à la MMC de ces cellules, renforçant ainsi l'hypothèse d'une implication directe de MYSM1.

Rôle possible de MYSM1 dans la DDR

Concernant les possibles voies d'action de MYSM1 dans la DDR, les marquages d'immunofluorescence réalisés durant cette thèse ont démontré une diminution du nombre de foyers 53BP1 après induction de dommages dans les fibroblastes primaires du patient M. Aussi, le recrutement de MYSM1 au niveau de CDB générées par irradiation laser, survient dans les secondes suivant l'induction de dommages. MYSM1 étant principalement décrit comme agissant sur l'état de la chromatine, celui-ci pourrait alors permettre une relaxation de cette dernière afin de faciliter la signalisation des cassures et l'accès des protéines de la réparation (Kakaroukias, Downs, et Jeggo 2015b; Altmeyer et al. 2013). Par ailleurs, la réduction d'accumulation de NBS1 dans les cellules dépourvues de MYSM1 suggère que MYSM1 pourrait permettre de stabiliser ou amplifier les signaux précoces de la DDR. Cette observation d'une réduction du recrutement de NBS1, dans les cellules RPE1 MyKO, devra être validée en complétant ce phénotype par l'expression ectopique de MYSM1 WT.

MYSM1 a été décrit comme interagissant directement avec les facteurs BRM et BRG1 (Zhu, 2007). De façon intéressante, ces derniers sont recrutés aux sites de lésions d'ADN générées par microirradiation laser tout comme pCAF (Gong et al. 2015) (Figure 27A), et semblent être localisés plus précisément à la périphérie de ces lésions, de façon similaire à ce que nous avons observé pour MYSM1 (Figure 27B).

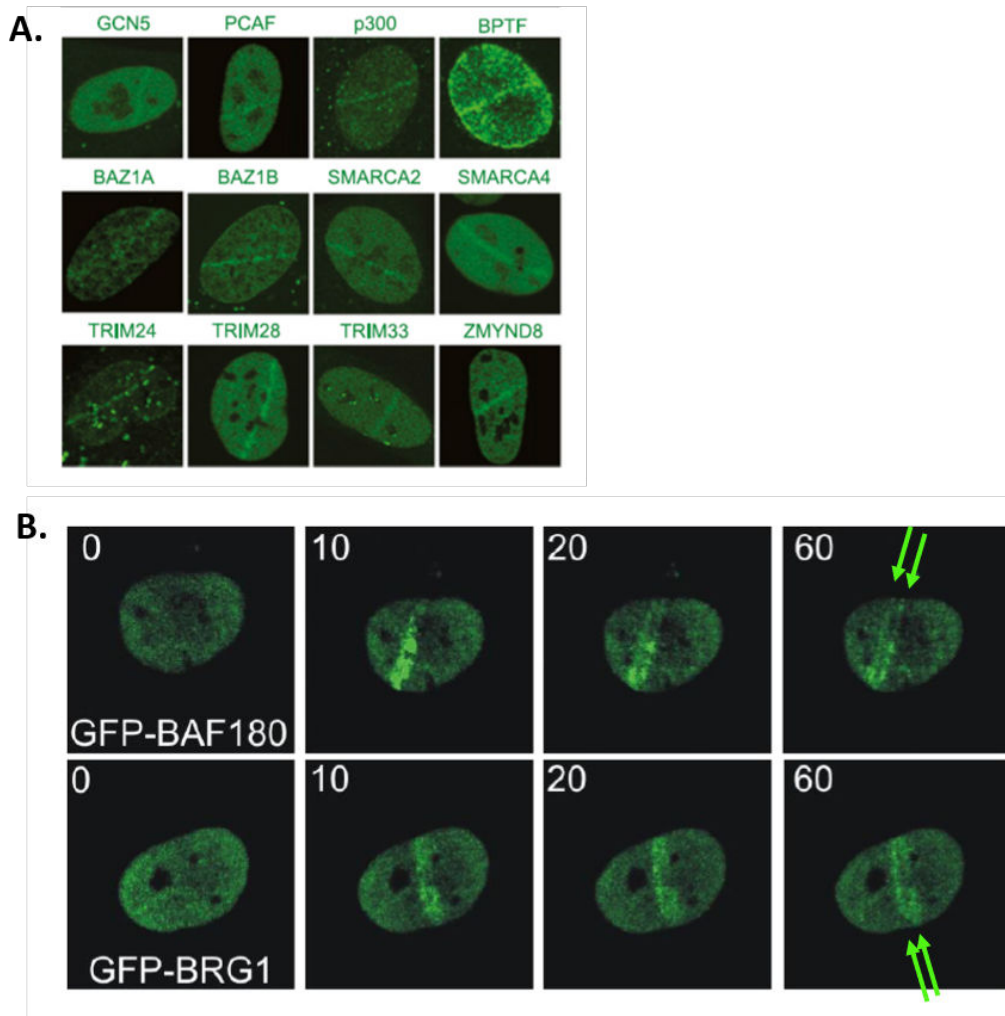


Figure 27 : Recrutement des facteurs pCAF, BRG1 (SMARCA4) et BRM (SMARCA2) au niveau de CDB générées par microirradiation laser

(A.) Résultats publiés par (Gong et al. 2015), présentant un recrutement des facteurs pCAF, BRG1 (SMARCA4) et BRM (SMARCA2) après microirradiation laser. (B.) Résultats publiés par (Kakaroungkas et al. 2014), présentant un recrutement en bordure des CDB générées par microirradiation laser des facteurs BRG1 et BAF180 (une sous-unité du complexe SWI/SNF pBAF).

BRM et BRG1 font partie du complexe remodeleur de la chromatine SWI/SNF (Kakarougkas et al. 2014; Kakarougkas, Downs, et Jeggo 2015b; Qi et al. 2015; Raab et al. 2017). L'implication de ce complexe dans les mécanismes de réparation de l'ADN a déjà été étudiée et celle-ci est décrite comme nécessaire à une répression de la transcription au niveau des CDB. Or, MYSM1 possède une fonction de répression de la transcription, démontré avec p19^{ARF} et les gènes cibles de p53, et pourrait donc participer à l'activité de ce complexe.

En continuant sur l'hypothèse d'une possible interaction entre MYSM1 et BRG1, il faut noter qu'une déficience en BRG1 est à l'origine du syndrome de Nicolaidis-Baraitser, caractérisé par un retard mental et des défauts développementaux comme un retard de croissance, une dysmorphie faciale et une brachydactylie (réduction en taille des doigts et des orteils) (Sousa et al, 2014) comme observé chez les patients décrits par Bahrami et al. De façon intéressante, une déplétion en BRG1 entraîne une hypersensibilité aux inhibiteurs de PARP et aux agents génotoxiques induisant un stress réplicatif, comme c'est le cas pour la MMC. De plus, aucune sensibilité aux UV ou aux RI n'est observable dans un modèle cellulaire déficient en BRG1 (Smith-Roe et al, 2015). Ces observations révèlent de nombreuses similarités avec les résultats obtenus chez le patient M, concernant la sensibilité aux agents génotoxiques. MYSM1 pourrait donc être impliqué au côté de BRG1 dans la DDR.

Enfin, il est important de préciser que MYSM1 ne possède pas uniquement H2AK119ub comme cible de son activité déubiquitinase. En effet, ce dernier est capable de déubiquitiner les facteurs TRAF3 et TRAF6 sur leur lysine 63. Ces observations impliquent que MYSM1 pourrait avoir d'autres cibles, comme des facteurs de la réparation par exemple, et ne pas exercer son activité uniquement sur l'histone H2AK119ub. Afin d'identifier de possibles interactants de MYSM1, à la suite d'une activation de la DDR, des expériences de co-immunoprécipitation en conditions génotoxiques, suivies d'une analyse par spectrométrie de masse, ont été initiées durant cette thèse (en partenariat avec la plateforme de protéomique de l'Institut Curie). Malheureusement aucun candidat fort, interagissant avec MYSM1, n'a pu être identifié jusqu'à présent. Des approches plus sensibles, comme le bioID basé sur le transfert d'ubiquitine sur des protéines localisées à proximité d'un facteur d'intérêt (ici MYSM1-APEX), pourraient être mises en place afin d'identifier des partenaires de MYSM1 au cours de la réparation de l'ADN (Roux, Kim, et Burke 2013).

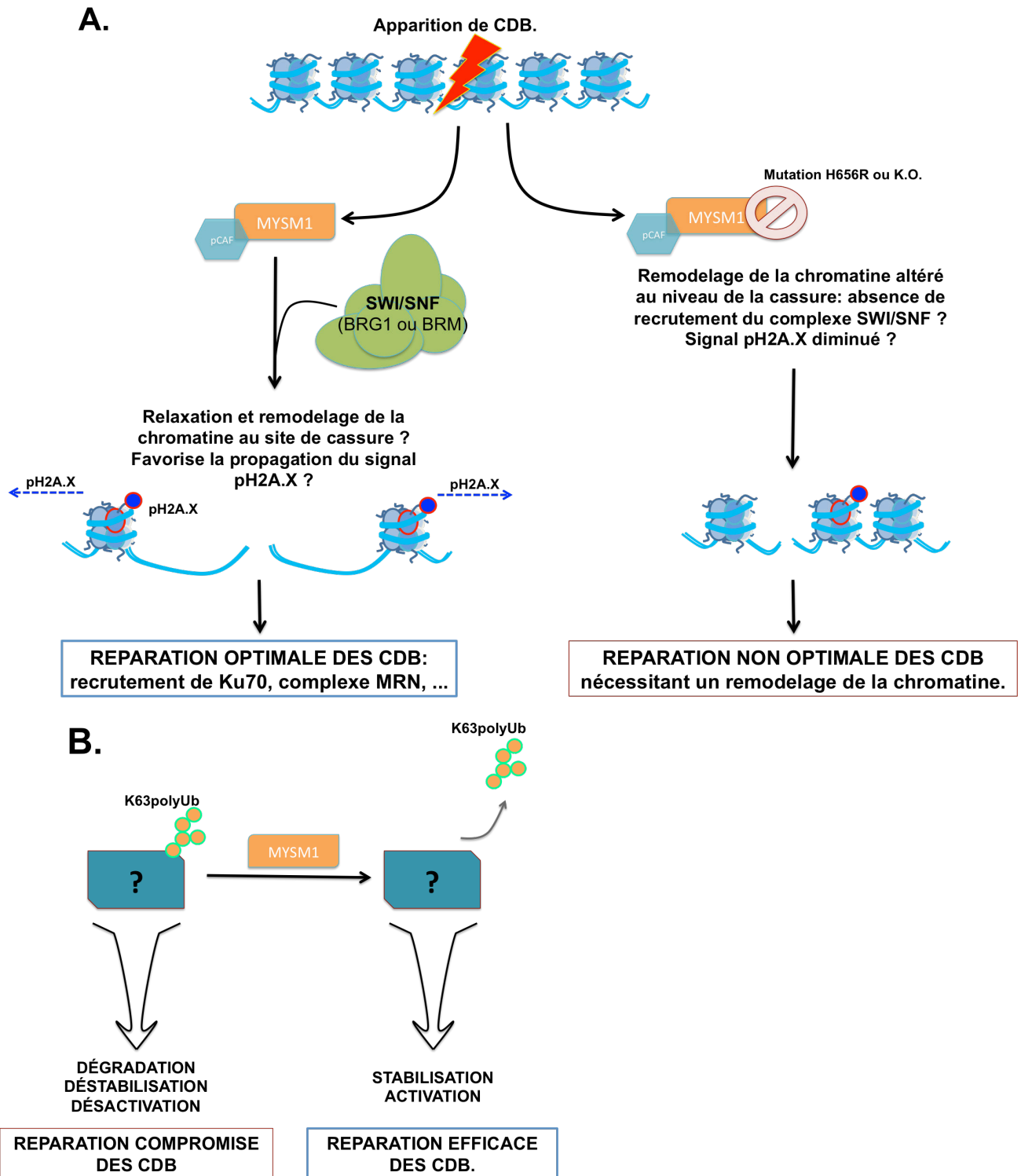


Schéma 20 : Illustration des fonctions potentielles de MYSM1 au cours de la DDR.

(A.) MYSM1 pourrait être impliqué dans le remodelage de la chromatine nécessaire à la bonne signalisation des CDB (B.) MYSM1 pourrait être nécessaire, via déubiquitination, au recrutement, à l'activation ou à la stabilisation d'un facteur impliqué directement dans la DDR. Ces deux fonctions proposées pour MYSM1 au cours de la DDR ne s'excluent pas mutuellement.

PARTIE III.2 : [Caractérisation phénotypique d'un syndrome de vieillissement accéléré et implication du facteur ZNF699]

Etude phénotypique du patient Z

L'étude phénotypique du patient Z a permis de mettre en évidence un raccourcissement prématuré des télomères, accompagné d'un niveau de sénescence élevé au sein des fibroblastes primaires de ce dernier. Ces observations, associées au phénotype clinique du patient Z, sont en corrélation avec une téloméropathie proche d'un SHH. Ce raccourcissement télomérique semble également s'accompagner d'une perte de protection des télomères, avec une présence augmentée des TIFs. Ces résultats sont cependant à considérer avec prudence car l'état sénescence des fibroblastes primaires du patient Z n'a permis de réaliser cette expérience qu'une seule fois. Ainsi, le fait que cette instabilité génomique soit due au raccourcissement des télomères ou en soit la cause n'a pu être déterminé pour le moment, et la difficulté de maintien en culture des cellules non transformées du patient Z, rend la poursuite de ces travaux extrêmement difficile.

La tétraploïdie, observée dans les fibroblastes primaires et transformés du patient Z, est extrêmement intrigante. Ce changement de ploïdie permet en effet d'expliquer l'augmentation de la surface nucléaire de ces cellules ainsi que la présence d'aberrations nucléaires (noyaux binucléés et bourgeonnements). Une augmentation similaire de la ploïdie a déjà été décrite et associée à un effondrement de la taille des télomères (Davoli, Denchi, et de Lange 2010b; Davoli et de Lange 2012; Panopoulos et al. 2014). Le raccourcissement télomérique observé chez le patient Z pourrait donc être à l'origine de cet état tétraploïde. En effet, une taille réduite des télomères peut être une source d'instabilité génomique, et donner lieu à des fusions inter-télomériques. Ces fusions empêchent alors une ségrégation normale des chromosomes et mènent à une cytokinèse imparfaite, voire dans certains cas, à une endoreduplication (Davoli, Denchi, et de Lange 2010b; Davoli et de Lange 2012; Panopoulos et al. 2014). En conséquence de cet état tétraploïde anormal, l'observation d'aberrations télomériques dans les fibroSV du patient Z est à considérer avec prudence. En effet, comme démontré lors de l'expérience de vidéomicroscopie, les fibroSV du patient Z n'ont démontré aucune condensation de leurs chromosomes en métaphase. Les observations d'aberrations télomériques étant réalisées à partir d'un étalement de chromosomes

bloqués en métaphase, les résultats obtenus pourraient donc ne pas être représentatifs de l'état réel des télomères au sein des fibroblastes du patient Z. De plus, il est impossible pour le moment de déterminer si cette absence de division cellulaire est une cause ou une conséquence de l'état tétraploïde de ces cellules.

Enfin, l'observation d'une hypersensibilité des fibroSV du patient Z à la MMC, et donc à un stress réplicatif, est également à considérer avec prudence. Ces tests de sensibilité ayant été réalisés dans des fibroSV, il est impossible pour le moment de déterminer si cette hypersensibilité est le fait d'un défaut de réparation porté par le patient Z ou une conséquence de la nature tétraploïde de ces cellules.

De manière extrêmement intéressante, l'obtention d'une lignée B-EBV pour le patient Z a permis d'observer une ploïdie normale de ces cellules. En revanche, celles-ci démontrent une réduction de moitié du pourcentage de cellules en phase S, en comparaison d'un contrôle sain. Cette différence de ploïdie entre ces deux types cellulaires, issu du même patient, pourrait s'expliquer par la persistance d'une activité télomérase au sein des cellules B-EBV (Weng, Granger, et Hodes 1997). Les télomères des fibroblastes du patient Z, ne possédant aucune activité télomérase, pourraient ainsi se trouver plus durement affectés par le défaut du patient, menant à une endoreduplication spécifique de ce type cellulaire.

Enfin, une laminopathie ou dérégulation des lamines nucléaires pourrait être à l'origine du phénotype observé chez le patient Z. En effet, les laminopathies peuvent être associées à un raccourcissement des télomères (S. Huang et al. 2008), à un état de sénescence prématuré (Dreesen et al. 2013) et à une altération de l'architecture nucléaire (Camps, Erdos, et Ried 2015; Barascu et al. 2012; Goldman et al. 2004). Les laminopathies peuvent être définies par une étiologie et des phénotypes variés (Bertrand et al. 2011). Dans certains cas, les laminopathies peuvent affecter la structure de la chromatine (Mattioli et al. 2008), être source d'instabilité génomique (B. Liu et al. 2005), et être caractérisé par une hypersensibilité à certains agents génotoxiques comme la MMC (M. Singh et al. 2013). Toutes ces caractéristiques correspondent également aux observations faites dans les cellules du patient Z, et la possibilité qu'une laminopathie soit à l'origine du phénotype du patient Z ne peut donc être écartée pour le moment.

Le facteur ZNF699

Le schéma d'expression du gène *ZNF699* obtenu par qPCR au sein de différents tissus humain apparaît comme cohérent avec les symptômes relevés chez le patient Z. Cependant aucune fonction de la protéine ZNF699 n'est décrite à ce jour, et les résultats obtenus jusqu'à présent ne permettent pas d'établir un lien formel entre ZNF699 et la pathologie du patient Z.

Les différentes expériences menées durant cette thèse auront cependant permis de montrer une présence plus abondante de transcrits ZNF699 dans les fibroSV du patient Z en comparaison d'un contrôle sain. De plus, la mutation homozygote del.1421A portée par le patient permet l'expression d'une protéine tronquée $\Delta 699$, sans affecter la localisation nucléaire de cette dernière.

Quatrième partie: [Conclusion & Perspectives]

PARTIE IV.1 – Etude du rôle de MYSM1 dans la réparation de l'ADN

Les observations réalisées lors des expériences de microirradiation laser, démontrent formellement un recrutement direct de MYSM1 durant la DDR. Ces résultats sont corrélés par l'absence de dérégulation transcriptionnelle en conditions génotoxiques au sein des cellules du patient M ou de fibroblastes de souris MyKO.

La génération de lignées cellulaires MyKO a permis de mettre en évidence un lien entre les défauts de réparation observés chez le patient M et un défaut de MYSM1. Cependant, des expériences de sensibilité après traitement à la MMC sur les lignées RPE1 MyKO transduites avec le vecteur pCW57 seront nécessaires afin de pouvoir conclure de manière formelle sur le rôle de MYSM1 dans les défauts de réparation de l'ADN observés chez le patient M.

Ce travail de thèse a donc permis d'apporter les premiers éléments démontrant une implication de MYSM1 dans la DDR. Différentes voies d'action de MYSM1 après génération de dommages à l'ADN ont été mentionnées précédemment et devront être explorées par la suite.

Des résultats préliminaires obtenus par immunomarquage de foyers pH2A.X après irradiation (0,5Gy) des lignées RPE1 MyKO (Annexe 01) semblent révéler une diminution de l'intensité des foyers pH2A.X en l'absence de MYSM1. Ces observations pourraient corrélérer avec une réduction de l'intensité du recrutement de NBS1 (Figure 12) observé dans ces mêmes cellules et une baisse des foyers 53BP1 observé dans les fibroblastes primaires du patient M, encourageant l'hypothèse d'une implication de MYSM1 dans la signalisation des CDB. Il est également intéressant de préciser ici qu'un défaut en BRG1 entraîne une diminution d'intensité des foci pH2A.X, après induction de dommages à l'ADN (Smith-Roe et al, 2015).

Les mêmes expériences devront ainsi être répétées afin d'obtenir des données plus significatives. Et celles-ci devront également être réalisées au sein des cellules RPE1 MyKO exprimant les différents vecteurs pCW57, afin de déterminer de manière formelle si un défaut de MYSM1 est responsable de ces observations.

Enfin, il sera également intéressant d'étudier plus en détail l'effet de la forme H656R après induction de dommages à l'ADN. Celle-ci semble en effet démontrer un effet plus délétère qu'une absence de MYSM1. En effet, une absence de MYSM1 pourrait être compensée (dans une certaine mesure) par d'autres facteurs possédant une activité équivalente. En revanche, la présence d'une protéine MYSM1 non-fonctionnelle mais possédant toujours ces domaines d'interactions SANT et SWIRM (comme H656R), pourrait agir comme inhibiteur compétitif et s'avérer plus délétère qu'une absence de protéine. De manière intéressante, un effet similaire a déjà été décrit pour ATM, facteur précoce de la DDR (Daniel et al. 2012).

Le développement de peptides à l'image d'H656R pourrait alors s'avérer extrêmement intéressant, afin de potentialiser la réponse de certains types cellulaires cancéreux à des agents alkylants (comme la MMC) utilisés en chimiothérapie.

PARTIE IV.2 - Caractérisation phénotypique d'un syndrome de vieillissement accéléré associé à une immunodéficiences et implication du facteur ZNF699

L'étude des cellules du patient Z a permis de mettre en évidence un défaut de régulation des télomères, expliquant ainsi le phénotypique clinique de vieillissement accéléré chez ce patient. Cependant, l'origine de cette pathologie reste encore indéterminée.

L'obtention de deux types cellulaires différents pour ce patient (fibroblastes et lignée B-EBV), devrait permettre, par la suite, de mieux comprendre l'origine des anomalies observées dans les fibroblastes du patient. Ainsi, les différentes expériences réalisées sur ce type cellulaire (sensibilité aux agents génotoxiques, recherche d'aberrations télomériques, etc...) devront être réalisées à nouveau sur la lignée B-EBV du patient Z, portant également la mutation homozygote del1421A sur le gène *ZNF699*.

Enfin, l'identification d'un gène candidat fort codant la protéine ZNF699 devra être vérifiée par des expériences de complémentation du phénotype (sensibilité à la MMC, défaut de prolifération, sénescence, etc...), via une réintroduction de la forme WT de la protéine au sein des cellules du patient ou via le développement de modèles cellulaires déficients en ZNF699. Il est important de préciser qu'au cours de cette thèse, le système CRISPR/Cas9 a été utilisé sur des lignées U2OS, HEK293T ou fibroSVtel+ afin de générer des lignées KO ZNF699. Cette approche n'a

pas permis de générer des lignées modèles ZNF699 KO. En revanche, de nombreux clones hétérozygotes ont pu être séquencés, ce qui valide l'efficacité des guides ARN utilisés.

Ces expériences, réalisées à plusieurs reprises sans succès dans chaque type cellulaire, amènent alors à se demander si le facteur ZNF699 ne posséderait pas un rôle essentiel dans la prolifération ou survie cellulaire, les clones ZNF699 KO étant alors contre-sélectionnés. En effet, ce problème de viabilité dans le développement de modèles cellulaires est récurrent vis-à-vis des facteurs étudiés au laboratoire, ces derniers étant souvent impliqués dans des fonctions essentielles comme la réparation de l'ADN ou la stabilité des télomères.

Annexe 01

Un marquage anti-pH2A.X a été réalisé au sein de cellules RPE1 WT, MYSM1 206 et MYSM1 208, avant ou après génération de CDB par RI. La phosphorylation de l'histone H2A.X est une marque épigénétique importante de la signalisation des CDB. Le résultat de cette expérience préliminaire a permis d'observer une hétérogénéité dans l'induction des foyers pH2A.X au sein des différentes lignées RPE1 (Figure 28A). En comparaison des cellules RPE1 WT, les cellules RPE1 MYSM1 208 ont révélé une induction importante de foyers pH2A.X après irradiation. A l'inverse, la lignée RPE1 MYSM1 206 a révélé une fréquence faible de foyers pH2A.X avant ou après irradiation.

De plus, une réduction significative de l'intensité des foyers pH2A.X a pu être relevée au sein des cellules RPE1 MyKO (Figure 28B), en comparaison d'une lignée WT. Le peu de foyers observés dans la lignée RPE1 MYSM1 206 pourrait ainsi s'expliquer par une intensité trop faible de ces foyers, ne permettant pas leur détection. Cette expérience n'a pu être réalisée qu'une seule fois et ne permet donc pas de conclure sur une possible implication de MYSM1 dans la signalisation des CDB.

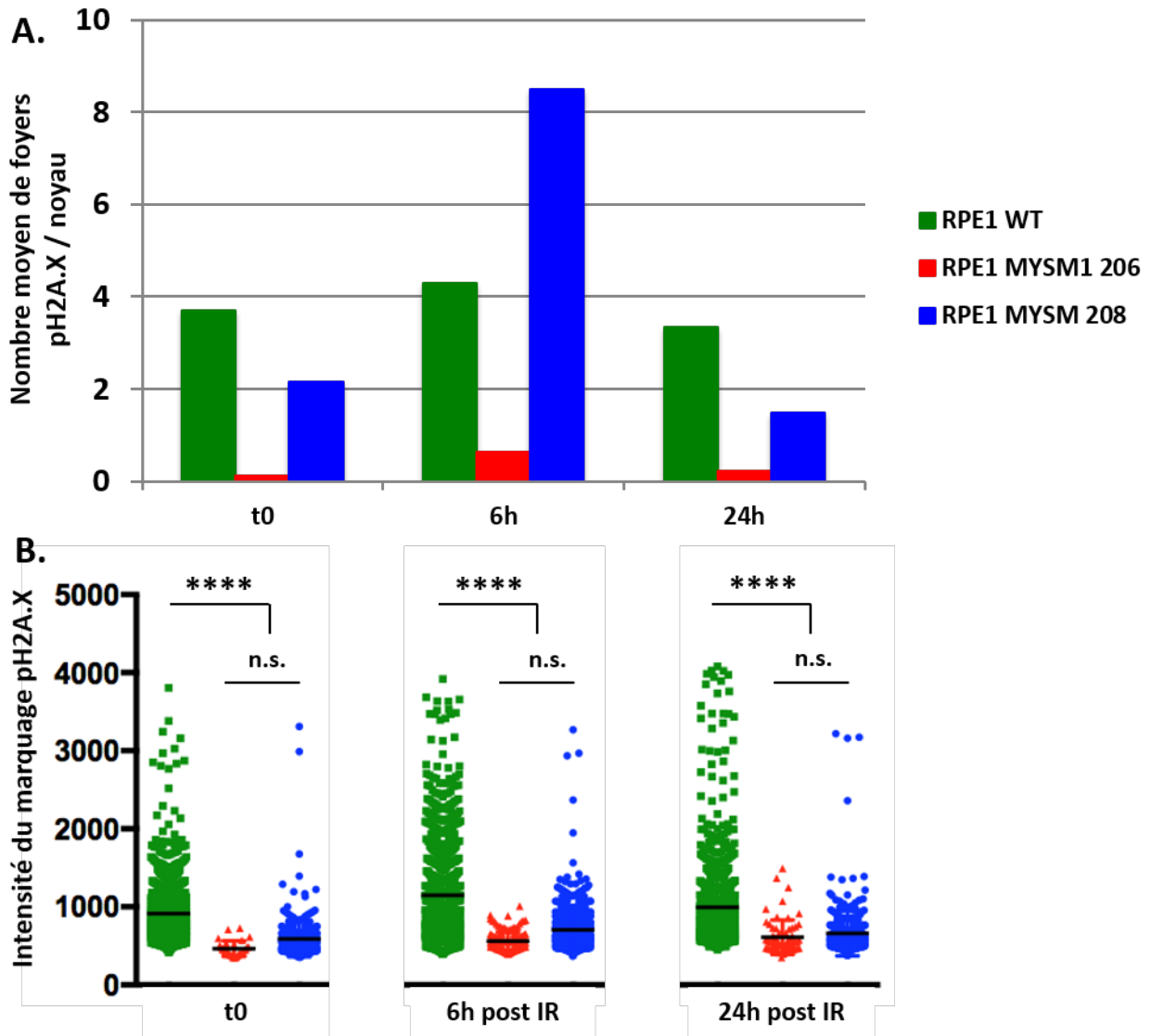


Figure 28 : Marquage de foyers pH2A.X dans les lignées RPE1 MyKO

(A.) Représentation du nombre moyen de foyers pH2A.X par noyau observé pour chaque lignée RPE1, sans dommages à l'ADN (t0) ou 6 heures et 24 heures après irradiation à 0,5 Gray. (B.) Représentation de l'intensité des foyers pH2A.X comptés pour chaque point de temps de la figure précédente.

Cette expérience est un résultat préliminaire. Celle-ci n'a été réalisée qu'une seule fois, avec un comptage de 200 noyaux minimum pour chaque condition. Le nombre et l'intensité des foyers ont été analysés via le logiciel Icy, permettant une analyse qualitative des images de microscopie.

Annexe 02

Comparaison du transcriptome entre patient M et contrôle sain.

Diminué chez le patient M

Augmenté chez le patient M

Genes	Nom	mean patient	mean Ctl	Ratio patient versus Ctl
SNORD78	small nucleolar RNA, C/D box 78 (SNORD78), small nucleolar RNA,	112,6686667	1258,829668	0,08950271
QPCT	glutaminyl-peptide cyclotransferase (QPCT), mRNA,	141,1770667	352,4057	0,400609487
LOC653930	PREDICTED: similar to EGFR-coamplified and overexpressed protein, transcript variant 2 (LOC653930), mRNA,	94,00726668	233,4656	0,402660085
RPA3	replication protein A3, 14kDa (RPA3), mRNA,	92,29984002	209,8841334	0,439765687
LOC441743	similar to C367G8,3 (novel protein similar to RPL23A (60S ribosomal protein L23A)) (LOC441743), mRNA,	209,4110667	439,5666999	0,476403302
SMG7	Smg-7 homolog, nonsense mediated mRNA decay factor (C. elegans) (SMG7), transcript variant 4, mRNA,	876,6264666	1788,497334	0,490146924
ANXA5	annexin A5 (ANXA5), mRNA,	1616,310665	793,3556999	2,037308946
HIP2	huntingtin interacting protein 2 (HIP2), mRNA,	278,3446333	136,3566	2,041299309
PABPC3	poly(A) binding protein, cytoplasmic 3 (PABPC3), mRNA,	195,9137333	92,76730668	2,111883381
LOC389101	PREDICTED: similar to ribosomal protein L23a (LOC389101), mRNA,	4051,291002	1898,560001	2,133875674
C7ORF49	chromosome 7 open reading frame 49 (C7orf49), mRNA,	234,1973666	108,4345	2,15980492
NBPF10	PREDICTED: neuroblastoma breakpoint family, member 10, transcript variant 36 (NBPF10), mRNA,	1632,005666	750,0008334	2,176005137
KRT126P	PREDICTED: keratin 126 pseudogene (KRT126P), mRNA,	629,7134668	281,9387334	2,23511725
S100BPB	S100P binding protein (S100BPB), transcript variant 1, mRNA,	484,7734	195,5724667	2,478740532
GUF1	GUF1 GTPase homolog (S. cerevisiae) (GUF1), mRNA,	675,8949668	270,5020333	2,49866871
HS_539400	DA654953 MESAN2 cDNA clone MESAN2010254 5, mRNA sequence	331,3378	126,2324	2,624823738
SPNS1	spinster homolog 1 (Drosophila) (SPNS1), mRNA,	537,6058333	188,651	2,849737522
RNASEK	ribonuclease, RNase K (RNASEK), mRNA,	590,0642668	198,6038333	2,971061821
CDK4	cyclin-dependent kinase 4 (CDK4), mRNA,	1174,491336	365,1642	3,21633757
FBXL3	F-box and leucine-rich repeat protein 3 (FBXL3), mRNA,	434,3562667	116,7223333	3,721278133

Comparaison du transcriptome entre patient M et contrôle sain en conditions génotoxiques.

Diminué chez le patient M

Augmenté chez le patient M

Genes	Nom	Mean in patient	Mean in Ctl	Ratios mean patient versu control
SNORD78	small nucleolar RNA, C/D box 78 (SNORD78), small nucleolar RNA,	117,5692	1462,187668	0,080406368
SMG7	Smg-7 homolog, nonsense mediated mRNA decay factor (C. elegans) (SMG7), transcript variant 4, mRNA,	721,9938999	1977,891996	0,365032015
LOC653930	PREDICTED: similar to EGFR-coamplified and overexpressed protein, transcript variant 2 (LOC653930), mRNA,	100,626845	255,9153	0,393203708
LOC441743	similar to C367G8,3 (novel protein similar to RPL23A (60S ribosomal protein L23A)) (LOC441743), mRNA,	179,9979	455,0069333	0,395593752
QPCT	glutaminyl-peptide cyclotransferase (QPCT), mRNA,	135,7341	302,0067	0,449440691
RPA3	replication protein A3, 14kDa (RPA3), mRNA,	92,85921	202,5838667	0,458374161
SLC9A3R1	solute carrier family 9 (sodium/hydrogen exchanger), member 3 regulator 1 (SLC9A3R1), mRNA,	316,18075	642,2618333	0,492292603
LOC650804	PREDICTED: hypothetical protein LOC650804 (LOC650804), mRNA,	432,73615	207,3420667	2,087063937
APOL2	apolipoprotein L, 2 (APOL2), transcript variant beta, mRNA,	770,0153	363,3292	2,119332275
HIP2	huntingtin interacting protein 2 (HIP2), mRNA,	338,702	154,8780333	2,186895021
S100BPB	S100P binding protein (S100BPB), transcript variant 1, mRNA,	385,3812001	174,8758667	2,203741473
PABPC3	poly(A) binding protein, cytoplasmic 3 (PABPC3), mRNA,	217,546	93,94972666	2,315557561
KRT126P	PREDICTED: keratin 126 pseudogene (KRT126P), mRNA,	700,72415	299,4436333	2,340086988
GUF1	GUF1 GTPase homolog (S. cerevisiae) (GUF1), mRNA,	607,8851	247,5363	2,455741239
WDR7	WD repeat domain 7 (WDR7), transcript variant 1, mRNA,	2033,260499	826,6826	2,459541908
NBPF10	PREDICTED: neuroblastoma breakpoint family, member 10, transcript variant 36 (NBPF10), mRNA,	2349,184999	923,0145	2,54512253
SPNS1	spinster homolog 1 (Drosophila) (SPNS1), mRNA,	522,93365	192,1250667	2,721839784
LOC100144604	hypothetical LOC100144604 (LOC100144604), non-coding RNA,	478,4975	168,9660333	2,83191533
RNASEK	ribonuclease, RNase K (RNASEK), mRNA,	628,1963502	221,1854	2,840134793
CDK4	cyclin-dependent kinase 4 (CDK4), mRNA,	1312,1505	448,0376334	2,92866135
HS_539400	DA654953 MESAN2 cDNA clone MESAN2010254 5, mRNA sequence	422,9849001	135,8536	3,11534717
CGRRF1	cell growth regulator with ring finger domain 1 (CGRRF1), mRNA,	644,9018499	199,5855	3,231205924
C7ORF49	chromosome 7 open reading frame 49 (C7orf49), mRNA,	400,7542499	120,001667	3,339614111
LOC644943	PREDICTED: similar to peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase COOH-terminal interactor (LOC644943), mRNA,	426,7165501	104,1886967	4,095612708
MATK	megakaryocyte-associated tyrosine kinase (MATK), transcript variant 3, mRNA,	1434,928498	344,3150333	4,16748721
FBXL3	F-box and leucine-rich repeat protein 3 (FBXL3), mRNA,	562,1277499	119,6351667	4,698683218
TMEM34	transmembrane protein 34 (TMEM34), mRNA,	498,7178999	104,7741	4,759934945

Figure 29 : Résultats obtenus après analyse transcriptomique des fibroblastes primaires du patient M en comparaison d'un contrôle sain, en l'absence ou présence de MMC.

Matériel & Méthodes

Cellules :

Les lignées cellulaires utilisées pour ce travail de thèse ont été obtenues à partir de biopsies de peau (fibroblastes) ou de prélèvements sanguins (lymphocytes B). Le consentement informé des familles a été obtenu en accord avec la déclaration d'Helsinki. Ces recherches ont également été approuvées par le comité d'éthique de l'INSERM. La transformation de ces cellules via expression de l'antigène grand T du virus simien SV40 a été réalisée selon la procédure décrite par (Buck et al. 2006).

Les cellules U2OS, HEK293T sont issues de lignées cultivées au laboratoire.

Culture cellulaire :

Toutes les cellules utilisées pour ce travail ont été cultivées dans un laboratoire de classe L2. Les cellules ont été maintenues en culture dans des flasques de 50 cm², 75 cm², 100 cm² ou dans des plaques de 6 à 96 puits (BD Falcon), au sein d'un incubateur à 37°C et 5% de CO₂. Le milieu de culture utilisé est un milieu DMEM de Gibco (Life Technologies) supplémenté avec 10% de SVF (Gibco, Life technologies) et 1% Pénicilline/Streptomycine. Le milieu de lavage utilisé est préparé à partir d'une dilution au 1/10e de DPBS 10X sans calcium et sans magnésium (ref :14200, Gibco, Life Technologies) stérile filtré à 0,2 µm (Filtre Whatman, GE Healthcare).

Extraction d'ADN génomique :

L'extraction d'ADN génomique de cellules en culture a été réalisée en suivant les instructions du kit ROCHE (High Pure PCR Template Preparation Kit ; ref : 11 796 828 001).

Extraction d'ARN et RT-PCR :

L'extraction d'ARN et synthèse d'ADNc a été réalisée en suivant les instructions du kit Life Technologies (PureLink RNA Mini Kit ; ref : 12183018A).

Analyse génétique

Le système de numérotation utilisé pour les séquences ADN est basé sur les séquences d'ADN codant. Le nucléotide 01 correspond au A de l'ATG de la séquence codante. Le codon ATG est considéré comme codon 01.

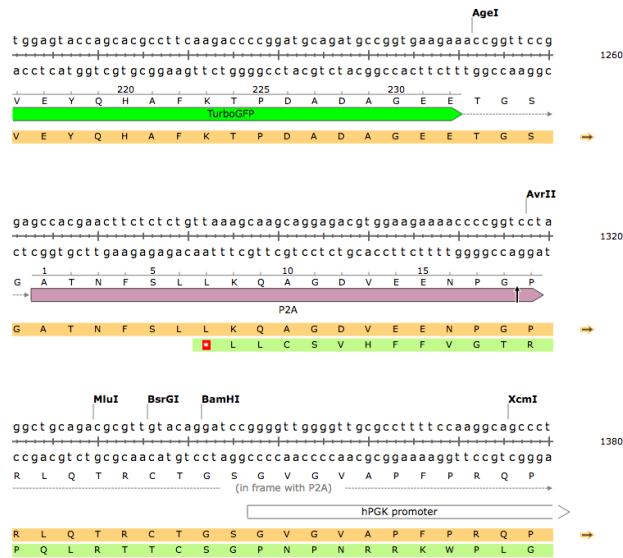
Constructions vectorielles :

Les constructions vectorielles ont été réalisées en suivant les instructions du protocole « Plasmid cloning by enzymatic restriction » : <https://www.addgene.org/protocols/subcloning/>).

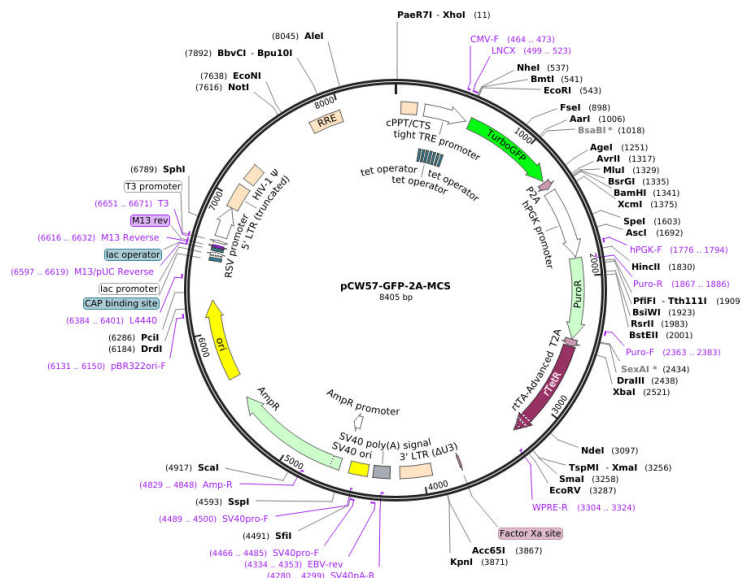
Pour la construction pCW57 :

primer AvrII-MYSM1-F (en phase avec P2A) : cctaggATGGCGGCTGAAGAGGCGG

primer MluI-MYSM1-R : acgcgtTCACATTAACAATTCCTTTG



Created with SnapGene®



Carte et séquence utilisée pour le développement des vecteurs pCW57 MYSM1 et H656R

Transfection(s) :

Les transfections sont réalisées avec des cellules à 60% de confluence, environ 24 heures après ensemencement. Un ratio de 50µL de Buffer (DNA transfection reagent kit, Polyplus Transfection) pour 1µg d'ADN est utilisé. Le tout est vortexé puis centrifugé rapidement. 2 µL de JetPrime (DNA transfection reagent kit, Polyplus Transfection) est ajouté au mélange pour chaque µg d'ADN. Le tout est vortexé puis centrifugé rapidement. La préparation est laissée environ 10 minutes à température ambiante avant d'être déposée goutte-à-goutte sur les cellules.

Le milieu de culture des cellules est changé 4 heures après transfection.

Transduction(s) :

Les manipulations sont réalisées dans un laboratoire de classe L3 pour toute production de virus considéré à risque par les normes de sécurité de l'Institut.

Les cellules HEK293T sontensemencées la veille de leur transfection à environ 50% de confluence. Celles-ci sont transfectées via lipofectamine (Invitrogen, ref 11668-019) 24heures plus tard dans un milieu sans antibiotiques de la manière suivante :

- mélange 1 : Optimem 1,5 ml (Gibco ref 31985-047 pour 500 ml) + 24 mg d'ADN
- mélange 2 : Otpimem 1,5 ml + Lipofectamine 60 ml (déposer la lipofectamine au goutte à goutte dans l'Optimem sans toucher le plastique)

Déposer le mélange 2 dans le mélange 1 aux gouttes à gouttes. Retourner le tube 2 à 3 fois. Laisser en contact pendant 20 min à RT au repos.

Sortir la boîte de culture de cellules : enlever 3 ml de milieu et rajouter 3 ml du mélange lipofectamine + ADN. Incuber à 37°C. Les quantités proposées sont adaptées à une plaque de culture ronde 10cm.

Les ratios de vecteurs transfectés sont calculés afin d'obtenir une concentration équivalente de vecteurs contenant les séquences VSVG, Gag/pol et lentivirale d'intérêt, pour un total de 24 μ g d'ADN.

Le milieu de culture est changé 6heures après transfection, avec seulement 6,5mL de milieu frais. Le milieu de culture considéré comme surnageant n°1 est récupéré 48heures après transfection. Le milieu de culture considéré comme surnageant n°2 est récupéré 72heures après transfection. Les surnageants viraux sont prélevés avec soin, filtrés et complétés avec 5mg.ml⁻¹ de polybrène, avant ajout sur les cellules à transduire. Le surnageant est retiré et remplacé par du milieu de culture frais au bout de 6 à 8 heures d'incubation.

Micro-irradiation laser :

Des cellules HEK293T ou RPE1 transfectées (avec un ou deux vecteurs exprimant les facteurs NBS1-DsRED, MYSM1-GFP ou mCherry-NLS) sontensemencées entre 24 et 48 heures après transfection sur des plaques 8 puits (300 μ l par puits) adaptées pour la microscopie confocale (Ibidi, BioValley). Pour l'ensemencement, le milieu de culture est enrichi avec 10 μ M de BrdU (BD Pharmingen) en tant qu'agent photosensibilisant. 48

heures après ajout de BrdU, les cellules peuvent être imagées à l'aide d'un vidéomicroscope confocale Leica TCS SP8.

Les plasmides permettant l'expression des vecteurs NBS1-DsRed ont été fournis par C. Lukas (University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark). Les plasmides permettant d'exprimer MYSM1-GFP ou H656R-GFP, ont été conçus à partir d'un vecteur eGFP-N2 de chez Addgene. Les plasmides permettant d'exprimer mCherry-NLS ont été obtenus chez Addgene.

Pour l'irradiation laser, la puissance des sources lumineuses (laser Argon et diode 405nm) est réglée à 80%.

Le chemin optique est réglé en fonction des constructions vectorielles employées : le PMT2 est activé pour la détection des longueurs d'ondes de 488 à 530 nm (correspondant au spectre d'émission de la GFP) ; le PMT3 est activé pour la détection des longueurs d'ondes de 580 à 640 nm (correspondant au spectre d'émission du Ds-Red). Le PMTtrans est activé à chaque expérimentation. Les lasers à 488 nm (excitation de la GFP) et 530 nm (excitation du Ds-Red) sont réglés entre 1,5 et 2,5% suivant l'intensité du signal fluorescent.

Les paramètres d'irradiation et d'acquisition des images sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Paramètres de micro-irradiation			
Taille de la ROI (région irradiée)	Taille de la PSF (app. 200 nm)		
Temps d'irradiation/bleach	1 passage de 500 ms	laser (405nm) 100%	UV à

Traitement des images sous ImageJ / Icy:

Les vidéos (acquisitions d'images en direct) obtenues via le vidéomicroscope Leica TCS SP8 sont enregistrées à l'aide du logiciel LASAF au format « .lif ».

En utilisant le logiciel ImageJ et le plug-in FIJI fourni par la plateforme d'imagerie, les données sont analysées et enregistrées au format « .tif ».

Pour la mesure des cinétiques de recrutement, l'outil ROI Intensity Evolution est utilisé afin de sélectionner précisément les zones nucléaires irradiées. Les données obtenues sont enregistrées dans un tableur (Excel) au format « .csv » afin d'établir les courbes de cinétique.

Tests de sensibilité aux agents génotoxique :

La sensibilité des cellules a été évalué comme précédemment décrits dans (Buck et al. 2006).

Test de blocage en phase G2/M

Les analyses de blocage en phase G2/M ont été réalisées par traitement des cellules durant 48heures avec des doses croissantes de MMC. Les cellules sont ensuite fixées en éthanol 70% froid et conserver O/N à -20°C. Celles-ci sont ensuite lavées au PBS 1X, resuspendues dans une solution de PBS 1X + Triton X-100 (0,5%) + 25 µg.ml⁻¹ d'iodure de propidium. Les cellules marquées sont analysées par cytométrie en flux.

Immunofluorescence :

Les cellules sont fixées avec PFA (4%) pendant 15min à température ambiante, suivi de trois lavages au PBS1X. Celles-ci sont ensuite incubées 20min à température ambiante avec du PBS 1X + 0,1M de glycine 20min RT, avant d'être lavées trois fois au PBS 1X. Les cellules sont ensuite perméabilisées avec une solution de PBS 1X + Triton X100 (0,5%) + BSA (1%) pendant 15min à température ambiante, suivi de trois lavages au PBS 1X. Les cellules sont ensuite incubées pendant 30min avec une solution de PBS 1X + BSA (1%). Celle-ci est retirée, puis les cellules sont incubées avec une solution de PBS1 X + BSA (1%) contenant une dilution testée au préalable de l'anticorps primaire choisi, pendant 30min à température ambiante. Les cellules sont lavées trois fois avec une solution de PBS1X + BSA (1%), puis incubées pendant 30min à température ambiante dans le noir avec une solution de PBS 1X + BSA (1%) contenant une dilution au 1/1000^e de l'anticorps secondaire approprié couplé à un fluorophore. Les cellules sont ensuite lavées trois fois avec une solution de PBS 1X, puis incubé pendant 5min à température ambiante avec une dilution au 1/3000^e de DAPI (Invitrogen) dans du PBS 1X. Celles-ci sont de nouveau lavées trois fois

au PBS 1X avant d'être montées sur lame avec une goutte de Fluorsave (EMD Millipore). Les lames sont ensuite conservées à 4°C à l'abri de la lumière.

Étalement de chromosomes bloqués en métaphase :

Les cellules sont incubées entre 1 et 2 heures avec 0.1 µg.ml⁻¹ de colchicine (Sigma-Aldrich). Les cellules sont ensuite récupérées, centrifugées à 1500rpm pendant 5min puis lavées deux fois au PBS 1X. Le culot cellulaire est alors incubé pendant 20min à 37°C dans une solution hypotonique de PBS 1X + 0.75 µM KCl. Les cellules sont ensuite fixées par une solution d'éthanol/acide acétique (3:1) et étalées sur lame de verre. Après séchage à l'air, les cellules lames sont préparées pour un marquage FISH.

Marquage FISH :

Les lames portant les cellules à marquer ont été préalablement fixées par une solution de PBS 1X + PFA (4%) et laver trois fois par du PBS 1X.

Celles-ci sont ensuite déshydratées par un enchaînement de solution d'éthanol 70%, 90% puis 100%. Les lames sont laissées à sécher à l'air.

La sonde télomérique C-Cy3 PNA utilisée pour marquer les télomères est préchauffée à 70°C pendant 3min, puis centrifuger à 4°C pendant 1min à 5000rpm. La sonde est diluée au 1/100^e dans un tampon d'hybridation (formamide 70%). Quelques gouttes sont déposées sur chaque lame, avant de les recouvrir d'une lamelle. Les lames sont ensuite chauffées pendant 5min à 80°C, puis incubées pendant 1h30min à température ambiante à l'abri de la lumière.

Les lamelles sont ensuite délicatement retirées, et les lames sont lavées deux fois 15min avec une solution de formamide 70%. Trois lavages de 5min à température ambiante sont ensuite réalisés avec une solution de Tris/NaCl/Tween. Les lamelles sont ensuite séchées avec une incubation dans des solutions d'éthanol 70%, 90% puis 100%. Après séchage à l'air, les lames sont montées en utilisant du Vectashield (avec DAPI) et conservées à 4°C à l'abri de la lumière.

Pour l'utilisation de la sonde de marquage des centromères des chromosomes 7 et 8, le protocole fourni avec les sondes est utilisé (Metasystems Probes : XCE 7/8).

Mesure de la taille des télomères :

La longueur des télomères a été déterminé en utilisant une analyse TRF (Telomere Restriction Fragment) par Southern Blot à partir d'ADN issu de prélèvements sanguins comme décrits par (Touzot et al. 2010).

Test d'activité de la β -galactosidase :

Les cellules positives au marquage de la β -galactosidase ont été détectées comme décrits par (Dimri et al. 1995). Pour résumer, une monocouche de cellules est déposée sur lamelle de verre. 24heures plus tard, celles-ci sont fixées par une solution de PBS 1X + 4% PFA, lavées au PBS 1X puis incubées O/N avec une solution de marquage de l'activité β -galactosidase provenant d'un kit de détection de l'activité β -galactosidase (Invitrogen).

Acquisition d'images :

Toutes les images présentées (hors vidéomicroscopie et microirradiation laser) ont été acquises selon les mêmes conditions (puissance laser, temps d'exposition) avec un microscope à épifluorescence Axioplan Zeiss.

Analyses statistiques :

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le software Prism (GraphPad Software) en utilisant un t-test de Student ou un tableau de contingence.

Western blotting

Les cellules ont été lysées (après récupération et lavage au PBS 1X) pendant 30min sur glace avec un tampon de lyse contenant : 50 mmol/L Tris (pH 8.0), 2 mmol/L EDTA, 0.5% NP40, 1% cocktails inhibiteurs de phosphatases (Sigma) et inhibiteurs de protéases (Roche Applied Science). La lyse cellulaire est ensuite centrifugée à 4°C pendant 10min à 10.000rpm afin d'éliminer les débris membranaires. Le surnageant collecté (contenant l'extraction de protéines) est dosé par un test de Bradford. L'immunomarquage après migration des échantillons déposés sur gel de polyacrylamide et transfert sur membrane de nitrocellulose ont été réalisé avec les anticorps primaires appropriés à une dilution allant de 1/250^e à 1/1000^e en fonction de l'anticorps utilisé.

Anticorps primaires :

Les anticorps primaires utilisés en immunomarquage proviennent de chez :

- Anti-53BP1 (Novus Biologicals).
- Anti-MYSM1 (Abcam)
- Anti-H3K9me3 (Active Motif)
- Anti-actine (Santa Cruz)
- Anti-Ku70 (Neomarkers)
- Anti-pH2A.X (Abcam)
- Anti-p53 (Santa Cruz)
- Anti-lamin A/C (Santa Cruz)
- Anti-ZNF699 (Abcam)
- Anti-Flag M2 (Sigma Aldrich)

Mutagenèse par utilisation du système CRISPR/Cas9 :

La séquence 5'- CCTTACGAGATATTGACACACAA -3' localisée dans l'exon 16 de MYSM1 a été utilisée comme ARN guide et insérée dans un plasmide pX330-U6-Chimeric_BB-CBhhSpCas9 (offert au laboratoire par F. Zhang, Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard University, Cambridge, plasmide n° 42230 ; Addgene ; (Ran et al. 2013). Ce nouveau plasmide a été transfecté dans cellules U2OS, fibroblastes et RPE1. L'efficacité de mutagenèse de cette construction a été testée sur des cellules HeLa lors d'un stage de Master 2 au laboratoire DGSI avant le début de cette thèse, par séquençage Ion Torrent, en collaboration avec la plateforme de génomique de l'Institut IMAGINE.

Les lignées clonales obtenues pour les cellules U2OS, fibroblastes et RPE1, ont été sélectionnées par dilution limite des cellules 48 heures après transfection, à une densité de 1,5 cellules par puits dans des plaques 96 puits. Après 1,5 semaine d'incubation à 37°C/5% CO₂, les cellules ont été screenées par extraction d'ADN génomique et séquençage direct. Les lignées clonales sélectionnées comme mutante homozygote ont été mises en culture dans un volume plus important afin d'effectuer des backups (congélation d'ampoules à -80°C ou azote liquide) et poursuivre les différents tests présentés en partie résultats.

Références Bibliographiques

- Abbas, Hussein A., Daniela R. Maccio, Suleyman Coskun, James G. Jackson, Amy L. Hazen, Tiffany M. Sills, M. James You, Karen K. Hirschi, et Guillermina Lozano. 2010. « Mdm2 Is Required for Survival of Hematopoietic Stem Cells/Progenitors via Dampening of ROS-Induced P53 Activity ». *Cell Stem Cell* 7 (5): 606–17. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.09.013>.
- Abramowski, Vincent, Olivier Etienne, Ramy Elsaid, Junjie Yang, Aurélie Berland, Laetitia Kermasson, Benoit Roch, et al. 2018. « PAXX and Xlf Interplay Revealed by Impaired CNS Development and Immunodeficiency of Double KO Mice ». *Cell Death and Differentiation* 25 (2): 444–52. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.184>.
- Ahmad, A., A. R. Robinson, A. Duensing, E. van Drunen, H. B. Beverloo, D. B. Weisberg, P. Hasty, J. H. J. Hoeijmakers, et L. J. Niedernhofer. 2008. « ERCC1-XPF Endonuclease Facilitates DNA Double-Strand Break Repair ». *Molecular and Cellular Biology* 28 (16): 5082–92. <https://doi.org/10.1128/MCB.00293-08>.
- Åhsberg, Josefine, Jonas Ungerbäck, Tobias Strid, Eva Welinder, Jenny Stjernberg, Malin Larsson, Hong Qian, et Mikael Sigvardsson. 2013. « Early B-Cell Factor 1 Regulates the Expansion of B-Cell Progenitors in a Dose-Dependent Manner ». *Journal of Biological Chemistry* 288 (46): 33449–61. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.506261>.
- Aird, Katherine M., et Rugang Zhang. 2013. « Detection of Senescence-Associated Heterochromatin Foci (SAHF) ». In *Cell Senescence*, édité par Lorenzo Galluzzi, Ilio Vitale, Oliver Kepp, et Guido Kroemer, 965:185–96. Totowa, NJ: Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-239-1_12.
- Alsbeih, Ghazi, Khaled Al-Hadyan, et Najla Al-Harbi. 2008. « Assessment of Carriers' Frequency of a Novel *MRE11* Mutation Responsible for the Rare Ataxia Telangiectasia-Like Disorder ». *Genetic Testing* 12 (3): 387–89. <https://doi.org/10.1089/gte.2008.0011>.
- Alsultan, A., H. E. Shamseldin, M. E. Osman, M. Aljabri, et F. S. Alkuraya. 2013. « MYSM1 Is Mutated in a Family with Transient Transfusion-Dependent Anemia, Mild Thrombocytopenia, and Low NK- and B-Cell Counts ». *Blood* 122 (23): 3844–45. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-09-527127>.
- Alter, B. P., N. Giri, S. A. Savage, et P. S. Rosenberg. 2009. « Cancer in Dyskeratosis Congenita ». *Blood* 113 (26): 6549–57. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-12-192880>.
- . 2015. « Telomere Length in Inherited Bone Marrow Failure Syndromes ». *Haematologica* 100 (1): 49–54. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.114389>.
- Altmann, Thomas, et Andrew R. Gennery. 2016. « DNA Ligase IV Syndrome; a Review ». *Orphanet Journal of Rare Diseases* 11 (1). <https://doi.org/10.1186/s13023-016-0520-1>.
- Altmeyer, Matthias, et Jiri Lukas. 2013. « To Spread or Not to Spread—Chromatin Modifications in Response to DNA Damage ». *Current Opinion in Genetics & Development* 23 (2): 156–65. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.11.001>.
- Altmeyer, Matthias, Luis Toledo, Thorkell Gudjonsson, Merete Grøfte, Maj-Britt Rask, Claudia Lukas, Vyacheslav Akimov, Blagoy Blagoev, Jiri Bartek, et Jiri Lukas. 2013. « The Chromatin Scaffold Protein SAFB1 Renders Chromatin Permissive for DNA Damage Signaling ». *Molecular Cell* 52 (2): 206–20. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.08.025>.
- Ameziane, Najim, Patrick May, Anneke Haitjema, Henri J. van de Vrugt, Sari E. van Rossum-Fikkert, Dejan Ristic, Gareth J. Williams, et al. 2015. « A Novel Fanconi Anaemia Subtype Associated with a Dominant-Negative Mutation in RAD51 ». *Nature Communications* 6 (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms9829>.

- Anand, Roopesh, Lepakshi Ranjha, Elda Cannavo, et Petr Cejka. 2016. « Phosphorylated CtIP Functions as a Co-Factor of the MRE11-RAD50-NBS1 Endonuclease in DNA End Resection ». *Molecular Cell* 64 (5): 940–950. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.10.017>.
- Anderson, Beverley H, Paul R Kasher, Josephine Mayer, Marcin Szykiewicz, Emma M Jenkinson, Sanjeev S Bhaskar, Jill E Urquhart, et al. 2012. « Mutations in CTC1, Encoding Conserved Telomere Maintenance Component 1, Cause Coats Plus ». *Nature Genetics* 44 (3): 338–42. <https://doi.org/10.1038/ng.1084>.
- Anttinen, A., L. Koulu, E. Nikoskelainen, R. Portin, T. Kurki, M. Erkinjuntti, N. G. J. Jaspers, et al. 2008. « Neurological Symptoms and Natural Course of Xeroderma Pigmentosum ». *Brain* 131 (8): 1979–89. <https://doi.org/10.1093/brain/awn126>.
- Aparicio, Tomas, Richard Baer, et Jean Gautier. 2014. « DNA Double-Strand Break Repair Pathway Choice and Cancer ». *DNA Repair* 19 (juillet): 169–75. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2014.03.014>.
- Arana, Mercedes E., et Thomas A. Kunkel. 2010. « Mutator Phenotypes Due to DNA Replication Infidelity ». *Seminars in Cancer Biology* 20 (5): 304–11. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2010.10.003>.
- Arat, N. Özlem, et Jack D. Griffith. 2012. « Human Rap1 Interacts Directly with Telomeric DNA and Regulates TRF2 Localization at the Telomere ». *Journal of Biological Chemistry* 287 (50): 41583–94. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.415984>.
- Aravind, L, et Lakshminarayan M Iyer. s. d. « The SWIRM Domain: A Conserved Module Found in Chromosomal Proteins Points to Novel Chromatin-Modifying Activities », 7.
- Armanios, Mary, et Elizabeth H. Blackburn. 2012. « The Telomere Syndromes ». *Nature Reviews Genetics* 13 (10): 693–704. <https://doi.org/10.1038/nrg3246>.
- Armanios, Mary Y., Julian J.-L. Chen, Joy D. Cogan, Jonathan K. Alder, Roxann G. Ingersoll, Cheryl Markin, William E. Lawson, et al. 2007. « Telomerase Mutations in Families with Idiopathic Pulmonary Fibrosis ». *New England Journal of Medicine* 356 (13): 1317–26. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa066157>.
- Arnoult, Nausica, Amandine Van Beneden, et Anabelle Decottignies. 2012. « Telomere Length Regulates TERRA Levels through Increased Trimethylation of Telomeric H3K9 and HP1 α ». *Nature Structural & Molecular Biology* 19 (9): 948–56. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2364>.
- Arora, Rajika, Yongwoo Lee, Harry Wischnewski, Catherine M. Brun, Tobias Schwarz, et Claus M. Azzalin. 2014. « RNaseH1 Regulates TERRA-Telomeric DNA Hybrids and Telomere Maintenance in ALT Tumour Cells ». *Nature Communications* 5 (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms6220>.
- Arya, Rahul, et Craig H. Bassing. 2017. « V(D)J Recombination Exploits DNA Damage Responses to Promote Immunity ». *Trends in Genetics* 33 (7): 479–89. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.04.006>.
- Asai, Takashi, Yan Liu, Narae Bae, et Stephen D. Nimer. 2011. « The P53 Tumor Suppressor Protein Regulates Hematopoietic Stem Cell Fate ». *Journal of Cellular Physiology* 226 (9): 2215–21. <https://doi.org/10.1002/jcp.22561>.
- Atkinson, Jc, Ke Harvey, Dl Domingo, Mi Trujillo, J-P Guadagnini, S Gollins, N Giri, Tc Hart, et Bp Alter. 2008. « Oral and Dental Phenotype of Dyskeratosis Congenita ». *Oral Diseases* 14 (5): 419–27. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2007.01394.x>.
- Aubert, Geraldine, et Peter M. Lansdorp. 2008. « Telomeres and Aging ». *Physiological Reviews* 88 (2): 557–79. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2007>.
- Audebert, Marc, Bernard Salles, et Patrick Calsou. 2004. « Involvement of Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 and XRCC1/DNA Ligase III in an Alternative Route for DNA Double-Strand Breaks Rejoining ». *Journal of Biological Chemistry* 279 (53): 55117–26. <https://doi.org/10.1074/jbc.M404524200>.

- Azzalin, C. M., P. Reichenbach, L. Khoriantseva, E. Giulotto, et J. Lingner. 2007. « Telomeric Repeat Containing RNA and RNA Surveillance Factors at Mammalian Chromosome Ends ». *Science* 318 (5851): 798–801. <https://doi.org/10.1126/science.1147182>.
- Baez, Sandra, Blas Couto, Eduar Herrera, Yamile Bocanegra, Natalia Trujillo-Orrego, Lucia Madrigal-Zapata, Juan Felipe Cardona, Facundo Manes, Agustin Ibanez, et Andres Villegas. 2013. « Tracking the Cognitive, Social, and Neuroanatomical Profile in Early Neurodegeneration: Type III Cockayne Syndrome ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 5. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2013.00080>.
- Bahrami, Ehsan, Maximilian Witzel, Tomas Racek, Jacek Puchałka, Sebastian Hollizeck, Naschla Greif-Kohistani, Daniel Kotlarz, et al. 2017. « Myb-like, SWIRM, and MPN Domains 1 (MYSM1) Deficiency: Genotoxic Stress-Associated Bone Marrow Failure and Developmental Aberrations ». *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 140 (4): 1112–19. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.10.053>.
- Bakkenist, Christopher J., et Michael B. Kastan. 2003. « DNA Damage Activates ATM through Intermolecular Autophosphorylation and Dimer Dissociation ». *Nature* 421 (6922): 499–506. <https://doi.org/10.1038/nature01368>.
- Balk, Bettina, Martina Dees, Katharina Bender, et Brian Luke. 2014. « The Differential Processing of Telomeres in Response to Increased Telomeric Transcription and RNA–DNA Hybrid Accumulation ». *RNA Biology* 11 (2): 95–100. <https://doi.org/10.4161/rna.27798>.
- Barascu, Aurélie, Catherine Le Chalony, Gaëlle Pennarun, Diane Genet, Nancy Zaarour, et Pascale Bertrand. 2012. « Oxydative Stress Alters Nuclear Shape through Lamins Dysregulation: A Route to Senescence ». *Nucleus* 3 (5): 411–17. <https://doi.org/10.4161/nucl.21674>.
- Barber, Louise J., Jillian L. Youds, Jordan D. Ward, Michael J. McIlwraith, Nigel J. O’Neil, Mark I.R. Petalcorin, Julie S. Martin, et al. 2008. « RTEL1 Maintains Genomic Stability by Suppressing Homologous Recombination ». *Cell* 135 (2): 261–71. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.08.016>.
- Barnes, Deborah E., Gordon Stamp, Ian Rosewell, Angela Denzel, et Tomas Lindahl. 1998. « Targeted Disruption of the Gene Encoding DNA Ligase IV Leads to Lethality in Embryonic Mice ». *Current Biology* 8 (25): 1395–98. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(98\)00021-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(98)00021-9).
- Bartek, Jiri, et Jiri Lukas. 2003. « Chk1 and Chk2 Kinases in Checkpoint Control and Cancer ». *Cancer Cell* 3 (5): 421–29. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00110-7](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00110-7).
- Batista, Luis F.Z. 2014. « Telomere Biology in Stem Cells and Reprogramming ». In *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 125:67–88. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397898-1.00003-7>.
- Baur, J. A. 2001. « Telomere Position Effect in Human Cells ». *Science* 292 (5524): 2075–77. <https://doi.org/10.1126/science.1062329>.
- Bebenek, Katarzyna, Lars C. Pedersen, et Thomas A. Kunkel. 2014. « Structure–Function Studies of DNA Polymerase λ ». *Biochemistry* 53 (17): 2781–92. <https://doi.org/10.1021/bi4017236>.
- Bekker-Jensen, Simon, Claudia Lukas, Risa Kitagawa, Fredrik Melander, Michael B. Kastan, Jiri Bartek, et Jiri Lukas. 2006. « Spatial Organization of the Mammalian Genome Surveillance Machinery in Response to DNA Strand Breaks ». *The Journal of Cell Biology* 173 (2): 195–206. <https://doi.org/10.1083/jcb.200510130>.
- Bell, Oliver, Vijay K. Tiwari, Nicolas H. Thomä, et Dirk Schübeler. 2011. « Determinants and Dynamics of Genome Accessibility ». *Nature Reviews Genetics* 12 (8): 554–64. <https://doi.org/10.1038/nrg3017>.
- Belle, J. I., D. Langlais, J. C. Petrov, M. Pardo, R. G. Jones, P. Gros, et A. Nijnik. 2015. « P53 Mediates Loss of Hematopoietic Stem Cell Function and Lymphopenia in Mysm1 Deficiency ». *Blood* 125 (15): 2344–48. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-574111>.

- Belle, J I, J C Petrov, D Langlais, F Robert, R Cencic, S Shen, J Pelletier, P Gros, et A Nijnik. 2016. « Repression of P53-Target Gene Bbc3/PUMA by MYSM1 Is Essential for the Survival of Hematopoietic Multipotent Progenitors and Contributes to Stem Cell Maintenance ». *Cell Death & Differentiation* 23 (5): 759–775. <https://doi.org/10.1038/cdd.2015.140>.
- Benetti, Roberta, Marta García-Cao, et María A Blasco. 2007. « Telomere Length Regulates the Epigenetic Status of Mammalian Telomeres and Subtelomeres ». *Nature Genetics* 39 (2): 243–250. <https://doi.org/10.1038/ng1952>.
- Benitz, Simone, Ivonne Regel, Tobias Reinhard, Anna Popp, Isabell Schäffer, Susanne Raulefs, Bo Kong, Irene Esposito, Christoph W. Michalski, et Jörg Kleeff. 2016. « Polycomb Repressor Complex 1 Promotes Gene Silencing through H2AK119 Mono-Ubiquitination in Acinar-to-Ductal Metaplasia and Pancreatic Cancer Cells ». *Oncotarget* 7 (10). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6717>.
- Bennardo, Nicole, Anita Cheng, Nick Huang, et Jeremy M. Stark. 2008. « Alternative-NHEJ Is a Mechanistically Distinct Pathway of Mammalian Chromosome Break Repair ». Édité par James E. Haber. *PLoS Genetics* 4 (6): e1000110. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000110>.
- Bennett, J. W., et M. Klich. 2003. « Mycotoxins ». *Clinical Microbiology Reviews* 16 (3): 497–516. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.3.497-516.2003>.
- Bernadotte, Alexandra, Victor M. Mikhelson, et Irina M. Spivak. 2016. « Markers of Cellular Senescence. Telomere Shortening as a Marker of Cellular Senescence ». *Aging* 8 (1): 3–11. <https://doi.org/10.18632/aging.100871>.
- Berti, Matteo, et Alessandro Vindigni. 2016. « Replication Stress: Getting Back on Track ». *Nature Structural & Molecular Biology* 23 (2): 103–109. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3163>.
- Bertrand, Anne T., Khadija Chikhaoui, Rabah Ben Yaou, et Gisèle Bonne. 2011. « Clinical and Genetic Heterogeneity in Laminopathies ». *Biochemical Society Transactions* 39 (6): 1687–1692. <https://doi.org/10.1042/BST20110670>.
- Bétermier, Mireille, Pascale Bertrand, et Bernard S. Lopez. 2014. « Is Non-Homologous End-Joining Really an Inherently Error-Prone Process? » Édité par Sue Jinks-Robertson. *PLoS Genetics* 10 (1): e1004086. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004086>.
- Bieging-Rolett, K T, T M Johnson, C A Brady, V G Beaudry, N Pathak, S Han, et L D Attardi. 2016. « P19Arf Is Required for the Cellular Response to Chronic DNA Damage ». *Oncogene* 35 (33): 4414–4421. <https://doi.org/10.1038/onc.2015.490>.
- Bisht, Kamlesh, Eric M. Smith, Valerie M. Tesmer, et Jayakrishnan Nandakumar. 2016. « Structural and Functional Consequences of a Disease Mutation in the Telomere Protein TPP1 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (46): 13021–13026. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605685113>.
- Biton, Sharon, Ari Barzilai, et Yosef Shiloh. 2008. « The Neurological Phenotype of Ataxia-Telangiectasia: Solving a Persistent Puzzle ». *DNA Repair* 7 (7): 1028–1038. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2008.03.006>.
- Blackburn, Elizabeth H. 2005. « Telomeres and Telomerase: Their Mechanisms of Action and the Effects of Altering Their Functions ». *FEBS Letters* 579 (4): 859–862. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.11.036>.
- Blackburn, Elizabeth H, Carol W Greider, et Jack W Szostak. 2006. « Telomeres and Telomerase: The Path from Maize, Tetrahymena and Yeast to Human Cancer and Aging ». *Nature Medicine* 12 (10): 1133–1138. <https://doi.org/10.1038/nm1006-1133>.
- Blanpain, Cedric, Mary Mohrin, Panagiota A. Sotiropoulou, et Emmanuelle Passegué. 2011. « DNA-Damage Response in Tissue-Specific and Cancer Stem Cells ». *Cell Stem Cell* 8 (1): 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.12.012>.
- Blasco, María A. 2007. « The Epigenetic Regulation of Mammalian Telomeres ». *Nature Reviews Genetics* 8 (4): 299–309. <https://doi.org/10.1038/nrg2047>.

- Bocquet, Nicolas, Anna H Bizard, Wassim Abdulrahman, Nicolai B Larsen, Mahamadou Faty, Simone Cavadini, Richard D Bunker, et al. 2014. « Structural and Mechanistic Insight into Holliday-Junction Dissolution by Topoisomerase III α and RMI1 ». *Nature Structural & Molecular Biology* 21 (3): 261–68. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2775>.
- Boesten, Daniëlle M. P. H. J., Joyce M. J. de Vos-Houben, Leen Timmermans, Gertjan J. M. den Hartog, Aalt Bast, et Geja J. Hageman. 2013. « Accelerated Aging during Chronic Oxidative Stress: A Role for PARP-1 ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013: 1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/680414>.
- Bolzán, Alejandro D. 2017. « Interstitial Telomeric Sequences in Vertebrate Chromosomes: Origin, Function, Instability and Evolution ». *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 773 (juillet): 51–65. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2017.04.002>.
- Borie, Raphael, Laure Tabèze, Gabriel Thabut, Hilario Nunes, Vincent Cottin, Sylvain Marchand-Adam, Grégoire Prevot, et al. 2016. « Prevalence and Characteristics of *TERT* and *TERC* Mutations in Suspected Genetic Pulmonary Fibrosis ». *European Respiratory Journal* 48 (6): 1721–31. <https://doi.org/10.1183/13993003.02115-2015>.
- Botuyan, Maria Victoria, Joseph Lee, Irene M. Ward, Ja-Eun Kim, James R. Thompson, Junjie Chen, et Georges Mer. 2006. « Structural Basis for the Methylation State-Specific Recognition of Histone H4-K20 by 53BP1 and Crb2 in DNA Repair ». *Cell* 127 (7): 1361–73. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.10.043>.
- Boyer, Laurie A., Michael R. Langer, Kimberly A. Crowley, Song Tan, John M. Denu, et Craig L. Peterson. 2002. « Essential Role for the SANT Domain in the Functioning of Multiple Chromatin Remodeling Enzymes ». *Molecular Cell* 10 (4): 935–42. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00634-2](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00634-2).
- Bradford, P. T., A. M. Goldstein, D. Tamura, S. G. Khan, T. Ueda, J. Boyle, K.-S. Oh, et al. 2011. « Cancer and Neurologic Degeneration in Xeroderma Pigmentosum: Long Term Follow-up Characterises the Role of DNA Repair ». *Journal of Medical Genetics* 48 (3): 168–76. <https://doi.org/10.1136/jmg.2010.083022>.
- Bregenhorn, Stephanie, Lia Kallenberger, Mariela Artola-Borán, Javier Peña-Díaz, et Josef Jiricny. 2016. « Non-Canonical Uracil Processing in DNA Gives Rise to Double-Strand Breaks and Deletions: Relevance to Class Switch Recombination ». *Nucleic Acids Research* 44 (6): 2691–2705. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1535>.
- Brooks, Brian P., Amy H. Thompson, Janine A. Clayton, Chi-Chao Chan, Deborah Tamura, Wadih M. Zein, Delphine Blain, et al. 2011. « Ocular Manifestations of Trichothiodystrophy ». *Ophthalmology* 118 (12): 2335–42. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.05.036>.
- Brouwer, Ineke, Tommaso Moschetti, Andrea Candelli, Edwige B Garcin, Mauro Modesti, Luca Pellegrini, Gijs JL Wuite, et Erwin JG Peterman. 2018. « Two Distinct Conformational States Define the Interaction of Human RAD51–ATP with Single-stranded DNA ». *The EMBO Journal* 37 (7): e98162. <https://doi.org/10.15252/embj.201798162>.
- Bryan, Tracy M, Anna Englezou, Jyothi Gupta, et Silvia Bacchetti. s. d. « Telomere Elongation in Immortal Human Cells without Detectable Telomerase Activity », 9.
- Buck, Dietke, Laurent Malivert, Régina de Chasseval, Anne Barraud, Marie-Claude Fondanèche, Ozden Sanal, Alessandro Plebani, et al. 2006. « Cernunnos, a Novel Nonhomologous End-Joining Factor, Is Mutated in Human Immunodeficiency with Microcephaly ». *Cell* 124 (2): 287–99. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.12.030>.
- Buckland, Robert J., Danielle L. Watt, Balasubramanyam Chittoor, Anna Karin Nilsson, Thomas A. Kunkel, et Andrei Chabes. 2014. « Increased and Imbalanced DNTP Pools Symmetrically Promote Both Leading and Lagging Strand Replication Infidelity ». Édité par Gregory P. Copenhaver. *PLoS Genetics* 10 (12): e1004846. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004846>.

- Bugreev, Dmitry V, Roberto J Pezza, Olga M Mazina, Oleg N Voloshin, R Daniel Camerini-Otero, et Alexander V Mazin. 2011. « The Resistance of DMC1 D-Loops to Dissociation May Account for the DMC1 Requirement in Meiosis ». *Nature Structural & Molecular Biology* 18 (1): 56–60. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1946>.
- Buisson, Rémi, Anne-Marie Dion-Côté, Yan Coulombe, Hélène Launay, Hong Cai, Alicja Z Stasiak, Andrzej Stasiak, Bing Xia, et Jean-Yves Masson. 2010. « Cooperation of Breast Cancer Proteins PALB2 and Piccolo BRCA2 in Stimulating Homologous Recombination ». *Nature Structural & Molecular Biology* 17 (10): 1247–54. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1915>.
- Burla, Romina, Mattia La Torre, et Isabella Saggio. 2016. « Mammalian Telomeres and Their Partnership with Lamins ». *Nucleus* 7 (2): 187–202. <https://doi.org/10.1080/19491034.2016.1179409>.
- Buseman, C.M., W.E. Wright, et J.W. Shay. 2012. « Is Telomerase a Viable Target in Cancer? » *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 730 (1–2): 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.07.006>.
- Cadet, Jean, et J. Richard Wagner. 2014. « Oxidatively Generated Base Damage to Cellular DNA by Hydroxyl Radical and One-Electron Oxidants: Similarities and Differences ». *Archives of Biochemistry and Biophysics* 557 (septembre): 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.05.001>.
- Campos, Eric I., et Danny Reinberg. 2009. « Histones: Annotating Chromatin ». *Annual Review of Genetics* 43 (1): 559–99. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.032608.103928>.
- Camps, Jordi, Michael R Erdos, et Thomas Ried. 2015. « The Role of Lamin B1 for the Maintenance of Nuclear Structure and Function ». *Nucleus* 6 (1): 8–14. <https://doi.org/10.1080/19491034.2014.1003510>.
- Cao, Kan, Cecilia D. Blair, Dina A. Faddah, Julia E. Kieckhafer, Michelle Olive, Michael R. Erdos, Elizabeth G. Nabel, et Francis S. Collins. 2011. « Progerin and Telomere Dysfunction Collaborate to Trigger Cellular Senescence in Normal Human Fibroblasts ». *Journal of Clinical Investigation* 121 (7): 2833–44. <https://doi.org/10.1172/JCI43578>.
- Catalan, N., F. Selz, K. Imai, P. Revy, A. Fischer, et A. Durandy. 2003. « The Block in Immunoglobulin Class Switch Recombination Caused by Activation-Induced Cytidine Deaminase Deficiency Occurs Prior to the Generation of DNA Double Strand Breaks in Switch Region ». *The Journal of Immunology* 171 (5): 2504–9. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.5.2504>.
- Cawthon, Richard M, Ken R Smith, Elizabeth O'Brien, Anna Sivatchenko, et Richard A Kerber. 2003. « Association between Telomere Length in Blood and Mortality in People Aged 60 Years or Older ». *The Lancet* 361 (9355): 393–95. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12384-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12384-7).
- Chai, B. 2005. « Distinct Roles for the RSC and Swi/Snf ATP-Dependent Chromatin Remodelers in DNA Double-Strand Break Repair ». *Genes & Development* 19 (14): 1656–61. <https://doi.org/10.1101/gad.1273105>.
- Chambers, Anna L., et Jessica A. Downs. 2012. « The RSC and INO80 Chromatin-Remodeling Complexes in DNA Double-Strand Break Repair ». In *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 110:229–61. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387665-2.00009-2>.
- Chang, Howard H. Y., Nicholas R. Pannunzio, Noritaka Adachi, et Michael R. Lieber. 2017. « Non-Homologous DNA End Joining and Alternative Pathways to Double-Strand Break Repair ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 18 (8): 495–506. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.48>.
- Chatterjee, Nimrat, et Graham C. Walker. 2017. « Mechanisms of DNA Damage, Repair, and Mutagenesis: DNA Damage and Repair ». *Environmental and Molecular Mutagenesis* 58 (5): 235–63. <https://doi.org/10.1002/em.22087>.

- Chen, Huan, Michael Lisby, et Lorraine S. Symington. 2013. « RPA Coordinates DNA End Resection and Prevents Formation of DNA Hairpins ». *Molecular Cell* 50 (4): 589–600. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.04.032>.
- Chen, Lih-Yow, Yi Zhang, Qinfen Zhang, Hongzhi Li, Zhenhua Luo, Hezhi Fang, Sok Ho Kim, et al. 2012. « Mitochondrial Localization of Telomeric Protein TIN2 Links Telomere Regulation to Metabolic Control ». *Molecular Cell* 47 (6): 839–50. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.07.002>.
- Chen, Lu, Caitlin M. Roake, Adam Freund, Pedro J. Batista, Siqi Tian, Yi A. Yin, Chandresh R. Gajera, et al. 2018. « An Activity Switch in Human Telomerase Based on RNA Conformation and Shaped by TCAB1 ». *Cell* 174 (1): 218–230.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.04.039>.
- Chen, L.-Y., D. Liu, et Z. Songyang. 2007. « Telomere Maintenance through Spatial Control of Telomeric Proteins ». *Molecular and Cellular Biology* 27 (16): 5898–5909. <https://doi.org/10.1128/MCB.00603-07>.
- Chen, Stefanie Hartman, Jody L. Plank, Smaranda Willcox, Jack D. Griffith, et Tao-shih Hsieh. 2014. « Top3 α Is Required during the Convergent Migration Step of Double Holliday Junction Dissolution ». Édité par Claudine Mayer. *PLoS ONE* 9 (1): e83582. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083582>.
- Chiolo, Irene, Aki Minoda, Serafin U. Colmenares, Aris Polyzos, Sylvain V. Costes, et Gary H. Karpen. 2011. « Double-Strand Breaks in Heterochromatin Move Outside of a Dynamic HP1a Domain to Complete Recombinational Repair ». *Cell* 144 (5): 732–44. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.012>.
- Chiruvella, K. K., Z. Liang, et T. E. Wilson. 2013. « Repair of Double-Strand Breaks by End Joining ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5 (5): a012757–a012757. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012757>.
- Choi, Kyung H., Amy S. Farrell, Amanda S. Lakamp, et Michel M. Ouellette. 2011. « Characterization of the DNA Binding Specificity of Shelterin Complexes ». *Nucleic Acids Research* 39 (21): 9206–23. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr665>.
- Chou, D. M., B. Adamson, N. E. Dephoure, X. Tan, A. C. Nottke, K. E. Hurov, S. P. Gygi, M. P. Colaiacovo, et S. J. Elledge. 2010. « A Chromatin Localization Screen Reveals Poly (ADP Ribose)-Regulated Recruitment of the Repressive Polycomb and NuRD Complexes to Sites of DNA Damage ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107 (43): 18475–80. <https://doi.org/10.1073/pnas.1012946107>.
- Chu, Hsueh-Ping, Catherine Cifuentes-Rojas, Barry Kesner, Eric Aeby, Hun-goo Lee, Chunyao Wei, Hyun Jung Oh, Myriam Boukhali, Wilhelm Haas, et Jeannie T. Lee. 2017. « TERRA RNA Antagonizes ATRX and Protects Telomeres ». *Cell* 170 (1): 86–101.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.06.017>.
- Chu, Hsueh-Ping, John E Froberg, Barry Kesner, Hyun Jung Oh, Fei Ji, Ruslan Sadreyev, Stefan F Pinter, et Jeannie T Lee. 2017. « PAR-TERRA Directs Homologous Sex Chromosome Pairing ». *Nature Structural & Molecular Biology* 24 (8): 620–31. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3432>.
- Chun, Helen H, et Richard A Gatti. 2004. « Ataxia–Telangiectasia, an Evolving Phenotype ». *DNA Repair* 3 (8–9): 1187–96. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2004.04.010>.
- Ciccio, Alberto, et Stephen J. Elledge. 2010. « The DNA Damage Response: Making It Safe to Play with Knives ». *Molecular Cell* 40 (2): 179–204. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.019>.
- Cimprich, Karlene A., et David Cortez. 2008. « ATR: An Essential Regulator of Genome Integrity ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9 (8): 616–27. <https://doi.org/10.1038/nrm2450>.

- Clague, Michael J., Igor Barsukov, Judy M. Coulson, Han Liu, Daniel J. Rigden, et Sylvie Urbé. 2013. « Deubiquitylases From Genes to Organism ». *Physiological Reviews* 93 (3): 1289–1315. <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2013>.
- Clapier, Cedric R., et Bradley R. Cairns. 2009. « The Biology of Chromatin Remodeling Complexes ». *Annual Review of Biochemistry* 78 (1): 273–304. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.062706.153223>.
- Clauson, C., O. D. Scharer, et L. Niedernhofer. 2013. « Advances in Understanding the Complex Mechanisms of DNA Interstrand Cross-Link Repair ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5 (10): a012732–a012732. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012732>.
- Cleaver, James E. 2005. « Opinion: Cancer in Xeroderma Pigmentosum and Related Disorders of DNA Repair ». *Nature Reviews Cancer* 5 (7): 564–73. <https://doi.org/10.1038/nrc1652>.
- Cloud, V., Y.-L. Chan, J. Grubb, B. Budke, et D. K. Bishop. 2012. « Rad51 Is an Accessory Factor for Dmc1-Mediated Joint Molecule Formation During Meiosis ». *Science* 337 (6099): 1222–25. <https://doi.org/10.1126/science.1219379>.
- Clynes, David, Clare Jelinska, Barbara Xella, Helena Ayyub, Caroline Scott, Matthew Mitson, Stephen Taylor, Douglas R. Higgs, et Richard J. Gibbons. 2015. « Suppression of the Alternative Lengthening of Telomere Pathway by the Chromatin Remodelling Factor ATRX ». *Nature Communications* 6 (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms8538>.
- Cohen, S. B., M. E. Graham, G. O. Lovrecz, N. Bache, P. J. Robinson, et R. R. Reddel. 2007. « Protein Composition of Catalytically Active Human Telomerase from Immortal Cells ». *Science* 315 (5820): 1850–53. <https://doi.org/10.1126/science.1138596>.
- Coleman, Kara A., et Roger A. Greenberg. 2011. « The BRCA1-RAP80 Complex Regulates DNA Repair Mechanism Utilization by Restricting End Resection ». *Journal of Biological Chemistry* 286 (15): 13669–80. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.213728>.
- Compton, Sarah A., Gökhan Tolun, Ashwini S. Kamath-Loeb, Lawrence A. Loeb, et Jack D. Griffith. 2008. « The Werner Syndrome Protein Binds Replication Fork and Holliday Junction DNAs as an Oligomer ». *Journal of Biological Chemistry* 283 (36): 24478–83. <https://doi.org/10.1074/jbc.M803370200>.
- Cooper, Eric M., Jef D. Boeke, et Robert E. Cohen. 2010. « Specificity of the BRISC Deubiquitinating Enzyme Is Not Due to Selective Binding to Lys⁶³-Linked Polyubiquitin ». *Journal of Biological Chemistry* 285 (14): 10344–52. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.059667>.
- Cortizas, E. M., A. Zahn, M. E. Hajjar, A.-M. Patenaude, J. M. Di Noia, et R. E. Verdun. 2013. « Alternative End-Joining and Classical Nonhomologous End-Joining Pathways Repair Different Types of Double-Strand Breaks during Class-Switch Recombination ». *The Journal of Immunology* 191 (11): 5751–63. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301300>.
- CRUTZEN, PAUL J. 1990. « And Biogeochemical Cycles » 250: 11.
- Cusanelli, Emilio, Carmina Angelica Perez Romero, et Pascal Chartrand. 2013. « Telomeric Noncoding RNA TERRA Is Induced by Telomere Shortening to Nucleate Telomerase Molecules at Short Telomeres ». *Molecular Cell* 51 (6): 780–91. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.08.029>.
- Da, Guoping, Jeffrey Lenkart, Kehao Zhao, Ramin Shiekhhattar, Bradley R Cairns, et Ronen Marmorstein. s. d. « Structure and Function of the SWIRM Domain, a Conserved Protein Module Found in Chromatin Regulatory Complexes », 6.
- Daley, James M, YoungHo Kwon, Hengyao Niu, et Patrick Sung. s. d. « Investigations of Homologous Recombination Pathways and Their Regulation », 9.
- Daniel, Jeremy A., Manuela Pellegrini, Baek-Seung Lee, Zhi Guo, Darius Filsuf, Natalya V. Belkina, Zhongsheng You, et al. 2012. « Loss of ATM Kinase Activity Leads to Embryonic Lethality in Mice ». *The Journal of Cell Biology* 198 (3): 295–304. <https://doi.org/10.1083/jcb.201204035>.

- Dantuma, N. P., et H. van Attikum. 2016. « Spatiotemporal Regulation of Posttranslational Modifications in the DNA Damage Response ». *The EMBO Journal* 35 (1): 6–23. <https://doi.org/10.15252/emj.201592595>.
- Das, Arindam, David A Grotzky, Martin A Neumann, Ray Kreienkamp, Ignacio Gonzalez-Suarez, Abena B Redwood, Brian K Kennedy, Colin L Stewart, et Susana Gonzalo. 2013. « Lamin A Δexon9 Mutation Leads to Telomere and Chromatin Defects but Not Genomic Instability ». *Nucleus* 4 (5): 410–19. <https://doi.org/10.4161/nucl.26873>.
- Davies, R. J. H. 1995. « Ultraviolet Radiation Damage in DNA ». *Biochemical Society Transactions* 23 (2): 407–18. <https://doi.org/10.1042/bst0230407>.
- Davoli, Teresa, et Titia de Lange. 2012. « Telomere-Driven Tetraploidization Occurs in Human Cells Undergoing Crisis and Promotes Transformation of Mouse Cells ». *Cancer Cell* 21 (6): 765–76. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.03.044>.
- Davoli, Teresa, Eros Lazzerini Denchi, et Titia de Lange. 2010a. « Persistent Telomere Damage Induces Bypass of Mitosis and Tetraploidy ». *Cell* 141 (1): 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.031>.
- . 2010b. « Persistent Telomere Damage Induces Bypass of Mitosis and Tetraploidy ». *Cell* 141 (1): 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.031>.
- Deans, Andrew J., et Stephen C. West. 2011. « DNA Interstrand Crosslink Repair and Cancer ». *Nature Reviews Cancer* 11 (7): 467–80. <https://doi.org/10.1038/nrc3088>.
- Decottignies, A. 2007. « Microhomology-Mediated End Joining in Fission Yeast Is Repressed by Pku70 and Relies on Genes Involved in Homologous Recombination ». *Genetics* 176 (3): 1403–15. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.071621>.
- Deeg, Katharina I., Inn Chung, Caroline Bauer, et Karsten Rippe. 2016. « Cancer Cells with Alternative Lengthening of Telomeres Do Not Display a General Hypersensitivity to ATR Inhibition ». *Frontiers in Oncology* 6 (août). <https://doi.org/10.3389/fonc.2016.00186>.
- Demple, B, et L Harrison. s. d. « Repair of Oxidative Damage to DNA: Enzymology and Biology », 34.
- Denchi, Eros Lazzerini, et Titia de Lange. 2007. « Protection of Telomeres through Independent Control of ATM and ATR by TRF2 and POT1 ». *Nature* 448 (7157): 1068–71. <https://doi.org/10.1038/nature06065>.
- Deng, Sarah K, Bryan Gibb, Mariana Justino de Almeida, Eric C Greene, et Lorraine S Symington. 2014. « RPA Antagonizes Microhomology-Mediated Repair of DNA Double-Strand Breaks ». *Nature Structural & Molecular Biology* 21 (4): 405–12. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2786>.
- Deng, Zhong, Amy E. Campbell, et Paul M. Lieberman. 2010. « TERRA, CpG Methylation, and Telomere Heterochromatin: Lessons from ICF Syndrome Cells ». *Cell Cycle* 9 (1): 69–74. <https://doi.org/10.4161/cc.9.1.10358>.
- Deng, Zhong, Julie Norseen, Andreas Wiedmer, Harold Riethman, et Paul M. Lieberman. 2009. « TERRA RNA Binding to TRF2 Facilitates Heterochromatin Formation and ORC Recruitment at Telomeres ». *Molecular Cell* 35 (4): 403–13. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2009.06.025>.
- Densham, Ruth M, Alexander J Garvin, Helen R Stone, Joanna Strachan, Robert A Baldock, Manuel Daza-Martin, Alice Fletcher, et al. 2016. « Human BRCA1–BARD1 Ubiquitin Ligase Activity Counteracts Chromatin Barriers to DNA Resection ». *Nature Structural & Molecular Biology* 23 (7): 647–55. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3236>.
- Depienne, Christel, Delphine Bouteiller, Aurélie Méneret, Ségolène Billot, Sergiu Groppa, Stephan Klebe, Fanny Charbonnier-Beupel, et al. 2012. « RAD51 Haploinsufficiency Causes Congenital Mirror Movements in Humans ». *The American Journal of Human Genetics* 90 (2): 301–7. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.12.002>.

- Deshpande, Rajashree A., Ji-Hoon Lee, Sucheta Arora, et Tanya T. Paull. 2016. « Nbs1 Converts the Human Mre11/Rad50 Nuclease Complex into an Endo/Exonuclease Machine Specific for Protein-DNA Adducts ». *Molecular Cell* 64 (3): 593–606. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.10.010>.
- Dewar, James M., et David Lydall. 2012. « Similarities and Differences between “Uncapped” Telomeres and DNA Double-Strand Breaks ». *Chromosoma* 121 (2): 117–30. <https://doi.org/10.1007/s00412-011-0357-2>.
- Dianov, Grigory L., et Ulrich Hübscher. 2013. « Mammalian Base Excision Repair: The Forgotten Archangel ». *Nucleic Acids Research* 41 (6): 3483–90. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt076>.
- DiGiovanna, John J., et Kenneth H. Kraemer. 2012. « Shining a Light on Xeroderma Pigmentosum ». *Journal of Investigative Dermatology* 132 (3): 785–96. <https://doi.org/10.1038/jid.2011.426>.
- Digweed, Martin, et Karl Sperling. 2004. « Nijmegen Breakage Syndrome: Clinical Manifestation of Defective Response to DNA Double-Strand Breaks ». *DNA Repair* 3 (8–9): 1207–17. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2004.03.004>.
- Diman, Aurélie, et Anabelle Decottignies. 2018. « Genomic Origin and Nuclear Localization of TERRA Telomeric Repeat-Containing RNA: From Darkness to Dawn ». *The FEBS Journal* 285 (8): 1389–98. <https://doi.org/10.1111/febs.14363>.
- Dimri, G. P., X. Lee, G. Basile, M. Acosta, G. Scott, C. Roskelley, E. E. Medrano, M. Linskens, I. Rubelj, et O. Pereira-Smith. 1995. « A Biomarker That Identifies Senescent Human Cells in Culture and in Aging Skin in Vivo. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92 (20): 9363–67. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.20.9363>.
- Dinkelmann, Maria, Elizabeth Spehalski, Trina Stoneham, Jeffrey Buis, Yipin Wu, JoAnn M Sekiguchi, et David O Ferguson. 2009. « Multiple Functions of MRN in End-Joining Pathways during Isotype Class Switching ». *Nature Structural & Molecular Biology* 16 (8): 808–13. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1639>.
- Dodson, Gerald E., Yuling Shi, et Randal S. Tibbetts. 2004. « DNA Replication Defects, Spontaneous DNA Damage, and ATM-Dependent Checkpoint Activation in Replication Protein A-Deficient Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 279 (32): 34010–14. <https://doi.org/10.1074/jbc.C400242200>.
- Doil, Carsten, Niels Mailand, Simon Bekker-Jensen, Patrice Menard, Dorthe Helena Larsen, Rainer Pepperkok, Jan Ellenberg, et al. 2009. « RNF168 Binds and Amplifies Ubiquitin Conjugates on Damaged Chromosomes to Allow Accumulation of Repair Proteins ». *Cell* 136 (3): 435–46. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.12.041>.
- Doksani, Ylli, John Y. Wu, Titia de Lange, et Xiaowei Zhuang. 2013. « Super-Resolution Fluorescence Imaging of Telomeres Reveals TRF2-Dependent T-Loop Formation ». *Cell* 155 (2): 345–56. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.048>.
- Donehower, Lawrence A. 2014. « Insights into Wild-Type and Mutant P53 Functions Provided by Genetically Engineered Mice ». *Human Mutation* 35 (6): 715–27. <https://doi.org/10.1002/humu.22507>.
- Dong, Yuanshu, Mohamed-Ali Hakimi, Xiaowei Chen, Easwari Kumaraswamy, Neil S Cooch, Andrew K Godwin, et Ramin Shiekhattar. 2003. « Regulation of BRCC, a Holoenzyme Complex Containing BRCA1 and BRCA2, by a Signalosome-like Subunit and Its Role in DNA Repair ». *Molecular Cell* 12 (5): 1087–99. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(03\)00424-6](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(03)00424-6).
- Dorado, Beatriz, et Vicente Andrés. 2017. « A-Type Lamins and Cardiovascular Disease in Premature Aging Syndromes ». *Current Opinion in Cell Biology* 46 (juin): 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2016.12.005>.
- Draskovic, I., N. Arnoult, V. Steiner, S. Bacchetti, P. Lomonte, et A. Londono-Vallejo. 2009. « Probing PML Body Function in ALT Cells Reveals Spatiotemporal Requirements for

- Telomere Recombination ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (37): 15726–15731. <https://doi.org/10.1073/pnas.0907689106>.
- Dreesen, Oliver, Alexandre Chojnowski, Peh Fern Ong, Tian Yun Zhao, John E. Common, Declan Lunny, E. Birgitte Lane, et al. 2013. « Lamin B1 Fluctuations Have Differential Effects on Cellular Proliferation and Senescence ». *The Journal of Cell Biology* 200 (5): 605–617. <https://doi.org/10.1083/jcb.201206121>.
- Dumble, M., L. Moore, S. M. Chambers, H. Geiger, G. Van Zant, M. A. Goodell, et L. A. Donehower. 2007. « The Impact of Altered P53 Dosage on Hematopoietic Stem Cell Dynamics during Aging ». *Blood* 109 (4): 1736–1742. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-03-010413>.
- Dumitrache, Lavinia C., et Peter J. McKinnon. 2017. « Polynucleotide Kinase-Phosphatase (PNKP) Mutations and Neurologic Disease ». *Mechanisms of Ageing and Development* 161 (janvier): 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2016.04.009>.
- Ebert, Anja, Louisa Hill, et Meinrad Busslinger. 2015. « Spatial Regulation of V(D)J Recombination at Antigen Receptor Loci ». In *Advances in Immunology*, 128:93–121. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.ai.2015.07.006>.
- Ecco, Gabriela, Michael Imbeault, et Didier Trono. 2017. « KRAB Zinc Finger Proteins ». *Development* 144 (15): 2719–2729. <https://doi.org/10.1242/dev.132605>.
- Egan, Emily D., et Kathleen Collins. 2010. « Specificity and Stoichiometry of Subunit Interactions in the Human Telomerase Holoenzyme Assembled *In Vivo* ». *Molecular and Cellular Biology* 30 (11): 2775–2786. <https://doi.org/10.1128/MCB.00151-10>.
- Eggler, Aimee L., Ross B. Inman, et Michael M. Cox. 2002. « The Rad51-Dependent Pairing of Long DNA Substrates Is Stabilized by Replication Protein A ». *Journal of Biological Chemistry* 277 (42): 39280–39288. <https://doi.org/10.1074/jbc.M204328200>.
- Elson, A., Y. Wang, C. J. Daugherty, C. C. Morton, F. Zhou, J. Campos-Torres, et P. Leder. 1996. « Pleiotropic Defects in Ataxia-Telangiectasia Protein-Deficient Mice ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93 (23): 13084–13089. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.23.13084>.
- Enomoto, Rima, Takashi Kinebuchi, Makoto Sato, Hideshi Yagi, Hitoshi Kurumizaka, et Shigeyuki Yokoyama. 2006. « Stimulation of DNA Strand Exchange by the Human TBPIP/Hop2-Mnd1 Complex ». *Journal of Biological Chemistry* 281 (9): 5575–5581. <https://doi.org/10.1074/jbc.M506506200>.
- Epstein, J. A., D. N. Shapiro, J. Cheng, P. Y. Lam, et R. L. Maas. 1996. « Pax3 Modulates Expression of the C-Met Receptor during Limb Muscle Development. ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93 (9): 4213–4218. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.9.4213>.
- Ericsson, C., I.L. Goldknopf, et B. Daneholt. 1986. « Inhibition of Transcription Does Not Affect the Total Amount of Ubiquitinated Histone 2A in Chromatin ». *Experimental Cell Research* 167 (1): 127–134. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(86\)90210-7](https://doi.org/10.1016/0014-4827(86)90210-7).
- Eriksson, Maria, W. Ted Brown, Leslie B. Gordon, Michael W. Glynn, Joel Singer, Laura Scott, Michael R. Erdos, et al. 2003. « Recurrent de Novo Point Mutations in Lamin A Cause Hutchinson–Gilford Progeria Syndrome ». *Nature* 423 (6937): 293–298. <https://doi.org/10.1038/nature01629>.
- Eustermann, Sebastian, Wing-Fung Wu, Marie-France Langelier, Ji-Chun Yang, Laura E. Easton, Amanda A. Riccio, John M. Pascal, et David Neuhaus. 2015. « Structural Basis of Detection and Signaling of DNA Single-Strand Breaks by Human PARP-1 ». *Molecular Cell* 60 (5): 742–754. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.10.032>.
- Faghri, S, D Tamura, K H Kraemer, et J J DiGiovanna. 2008. « Trichothiodystrophy: A Systematic Review of 112 Published Cases Characterises a Wide Spectrum of Clinical Manifestations ». *Journal of Medical Genetics* 45 (10): 609–621. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.058743>.

- Fell, Victoria L., et Caroline Schild-Poulter. 2015. « The Ku Heterodimer: Function in DNA Repair and Beyond ». *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 763 (janvier): 15–29. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2014.06.002>.
- Fernet, Marie, Moez Gribaa, Mustafa A.M. Salih, Mohamed Zein Seidahmed, Janet Hall, et Michel Koenig. 2005. « Identification and Functional Consequences of a Novel MRE11 Mutation Affecting 10 Saudi Arabian Patients with the Ataxia Telangiectasia-like Disorder ». *Human Molecular Genetics* 14 (2): 307–18. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi027>.
- Finley, Jahahreah. 2014. « Alteration of Splice Site Selection in the LMNA Gene and Inhibition of Progerin Production via AMPK Activation ». *Medical Hypotheses* 83 (5): 580–87. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2014.08.016>.
- Flaus, Andrew, et Tom Owen-Hughes. 2004. « Mechanisms for ATP-Dependent Chromatin Remodelling: Farewell to the Tuna-Can Octamer? ». *Current Opinion in Genetics & Development* 14 (2): 165–73. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2004.01.007>.
- Flynn, R. L., K. E. Cox, M. Jeitany, H. Wakimoto, A. R. Bryll, N. J. Ganem, F. Bersani, et al. 2015. « Alternative Lengthening of Telomeres Renders Cancer Cells Hypersensitive to ATR Inhibitors ». *Science* 347 (6219): 273–77. <https://doi.org/10.1126/science.1257216>.
- Fontana, Gabriele A., Julia K. Reinert, Nicolas H. Thomä, et Ulrich Rass. 2018. « Shepherding DNA Ends: Rif1 Protects Telomeres and Chromosome Breaks ». *Microbial Cell* 5 (7): 327–43. <https://doi.org/10.15698/mic2018.07.639>.
- Förster, Michael, Rupinder K. Boora, Jessica C. Petrov, Nassima Fodil, Isabella Albanese, Jamie Kim, Philippe Gros, et Anastasia Nijnik. 2017. « A Role for the Histone H2A Deubiquitinase MYSM1 in Maintenance of CD8⁺ T Cells ». *Immunology* 151 (1): 110–21. <https://doi.org/10.1111/imm.12710>.
- Fradet-Turcotte, Amélie, Marella D. Canny, Cristina Escribano-Díaz, Alexandre Orthwein, Charles C. Y. Leung, Hao Huang, Marie-Claude Landry, et al. 2013. « 53BP1 Is a Reader of the DNA-Damage-Induced H2A Lys 15 Ubiquitin Mark ». *Nature* 499 (7456): 50–54. <https://doi.org/10.1038/nature12318>.
- Frapplier, Lori. 2012. « Contributions of Epstein–Barr Nuclear Antigen 1 (EBNA1) to Cell Immortalization and Survival ». *Viruses* 4 (9): 1537–47. <https://doi.org/10.3390/v4091537>.
- Frescas, D., et T. de Lange. 2014. « TRF2-Tethered TIN2 Can Mediate Telomere Protection by TPP1/POT1 ». *Molecular and Cellular Biology* 34 (7): 1349–62. <https://doi.org/10.1128/MCB.01052-13>.
- Fumagalli, Marzia, Francesca Rossiello, Chiara Mondello, et Fabrizio d’Adda di Fagagna. 2014. « Stable Cellular Senescence Is Associated with Persistent DDR Activation ». Édité par Kenneth B. Marcu. *PLoS ONE* 9 (10): e110969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110969>.
- Galati, Alessandra, Emanuela Micheli, et Stefano Cacchione. 2013. « Chromatin Structure in Telomere Dynamics ». *Frontiers in Oncology* 3. <https://doi.org/10.3389/fonc.2013.00046>.
- Gao, B, K Li, Y-Y Wei, J Zhang, J Li, L Zhang, J-P Gao, et al. 2014. « Zinc Finger Protein 637 Protects Cells against Oxidative Stress-Induced Premature Senescence by MTERT-Mediated Telomerase Activity and Telomere Maintenance ». *Cell Death & Disease* 5 (7): e1334–e1334. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.298>.
- Gao, Zhonghua, Jin Zhang, Roberto Bonasio, Francesco Strino, Ayana Sawai, Fabio Parisi, Yuval Kluger, et Danny Reinberg. 2012. « PCGF Homologs, CBX Proteins, and RYBP Define Functionally Distinct PRC1 Family Complexes ». *Molecular Cell* 45 (3): 344–56. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.01.002>.
- Garaycochea, J. I., et K. J. Patel. 2014. « Why Does the Bone Marrow Fail in Fanconi Anemia? ». *Blood* 123 (1): 26–34. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-09-427740>.
- Gatzka, M, A Tasdogan, A Hainzl, G Allies, P Maity, C Wilms, M Wlaschek, et K Scharffetter-Kochanek. 2015. « Interplay of H2A Deubiquitinase 2A-DUB/Mysm1 and the P19ARF/P53

- Axis in Hematopoiesis, Early T-Cell Development and Tissue Differentiation ». *Cell Death & Differentiation* 22 (9): 1451–1462. <https://doi.org/10.1038/cdd.2014.231>.
- Gedik, Catherine M., et Andrew Collins. 2005. « Establishing the Background Level of Base Oxidation in Human Lymphocyte DNA: Results of an Interlaboratory Validation Study ». *The FASEB Journal* 19 (1): 82–84. <https://doi.org/10.1096/fj.04-1767fje>.
- Gerelchuluun, Ariungerel, Eri Manabe, Takaaki Ishikawa, Lue Sun, Kazuya Itoh, Takeji Sakae, Kenshi Suzuki, et al. 2015. « The Major DNA Repair Pathway after Both Proton and Carbon-Ion Radiation Is NHEJ, but the HR Pathway Is More Relevant in Carbon Ions ». *Radiation Research* 183 (3): 345–356. <https://doi.org/10.1667/RR13904.1>.
- Giacco, F., et M. Brownlee. 2010. « Oxidative Stress and Diabetic Complications ». *Circulation Research* 107 (9): 1058–1070. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545>.
- Ginjala, V., K. Nacerddine, A. Kulkarni, J. Oza, S. J. Hill, M. Yao, E. Citterio, M. van Lohuizen, et S. Ganesan. 2011. « BMI1 Is Recruited to DNA Breaks and Contributes to DNA Damage-Induced H2A Ubiquitination and Repair ». *Molecular and Cellular Biology* 31 (10): 1972–1982. <https://doi.org/10.1128/MCB.00981-10>.
- Glousker, Galina, Fabien Touzot, Patrick Revy, Yehuda Tzfati, et Sharon A. Savage. 2015. « Unraveling the Pathogenesis of Hoyeraal-Hreidarsson Syndrome, a Complex Telomere Biology Disorder ». *British Journal of Haematology* 170 (4): 457–471. <https://doi.org/10.1111/bjh.13442>.
- Goldman, R. D., D. K. Shumaker, M. R. Erdos, M. Eriksson, A. E. Goldman, L. B. Gordon, Y. Gruenbaum, et al. 2004. « Accumulation of Mutant Lamin A Causes Progressive Changes in Nuclear Architecture in Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101 (24): 8963–8968. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402943101>.
- Goldstein, M., F. A. Derheimer, J. Tait-Mulder, et M. B. Kastan. 2013. « Nucleolin Mediates Nucleosome Disruption Critical for DNA Double-Strand Break Repair ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (42): 16874–16879. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306160110>.
- Goldstein, M., et M. B. Kastan. 2015. « Repair versus Checkpoint Functions of BRCA1 Are Differentially Regulated by Site of Chromatin Binding ». *Cancer Research* 75 (13): 2699–2707. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-0400>.
- Gong, Fade, Li-Ya Chiu, Ben Cox, François Aymard, Thomas Clouaire, Justin W. Leung, Michael Cammarata, et al. 2015. « Screen Identifies Bromodomain Protein ZMYND8 in Chromatin Recognition of Transcription-Associated DNA Damage That Promotes Homologous Recombination ». *Genes & Development* 29 (2): 197–211. <https://doi.org/10.1101/gad.252189.114>.
- Goodarzi, Aaron A, Thomas Kurka, et Penelope A Jeggo. 2011. « KAP-1 Phosphorylation Regulates CHD3 Nucleosome Remodeling during the DNA Double-Strand Break Response ». *Nature Structural & Molecular Biology* 18 (7): 831–839. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2077>.
- Goodarzi, Aaron A., Angela T. Noon, Dorothee Deckbar, Yael Ziv, Yosef Shiloh, Markus Löbrich, et Penny A. Jeggo. 2008a. « ATM Signaling Facilitates Repair of DNA Double-Strand Breaks Associated with Heterochromatin ». *Molecular Cell* 31 (2): 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.05.017>.
- . 2008b. « ATM Signaling Facilitates Repair of DNA Double-Strand Breaks Associated with Heterochromatin ». *Molecular Cell* 31 (2): 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.05.017>.
- Grahame, Thomas J, et Richard B Schlesinger. 2012. « Oxidative Stress-Induced Telomeric Erosion as a Mechanism Underlying Airborne Particulate Matter-Related Cardiovascular Disease ». *Particle and Fibre Toxicology* 9 (1): 21. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-9-21>.

- Grasso, Francesca, et Teresa Frisan. 2015. « Bacterial Genotoxins: Merging the DNA Damage Response into Infection Biology ». *Biomolecules* 5 (3): 1762–82. <https://doi.org/10.3390/biom5031762>.
- Gravel, S., J. R. Chapman, C. Magill, et S. P. Jackson. 2008. « DNA Helicases Sgs1 and BLM Promote DNA Double-Strand Break Resection ». *Genes & Development* 22 (20): 2767–72. <https://doi.org/10.1101/gad.503108>.
- Greenberg, M.M. 2004. « In Vitro and in Vivo Effects of Oxidative Damage to Deoxyguanosine ». *Biochemical Society Transactions* 32 (1): 46–50. <https://doi.org/10.1042/bst0320046>.
- Gregory, J. J., J. E. Wagner, P. C. Verlander, O. Levran, S. D. Batish, C. R. Eide, A. Steffenhagen, B. Hirsch, et A. D. Auerbach. 2001. « Somatic Mosaicism in Fanconi Anemia: Evidence of Genotypic Reversion in Lymphohematopoietic Stem Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (5): 2532–37. <https://doi.org/10.1073/pnas.051609898>.
- Greider, Carol W., et Elizabeth H. Blackburn. 1985. « Identification of a Specific Telomere Terminal Transferase Activity in Tetrahymena Extracts ». *Cell* 43 (2): 405–13. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(85\)90170-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(85)90170-9).
- Griffith, Jack D, Laurey Comeau, Soraya Rosenfield, Rachel M Stansel, Alessandro Bianchi, Heidi Moss, et Titia de Lange. 1999. « Mammalian Telomeres End in a Large Duplex Loop ». *Cell* 97 (4): 503–14. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80760-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80760-6).
- Grillari, J., H. Katinger, et R. Voglauer. 2007. « Contributions of DNA Interstrand Cross-Links to Aging of Cells and Organisms ». *Nucleic Acids Research* 35 (22): 7566–76. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm1065>.
- Grompe, M. 2001. « Fanconi Anemia and DNA Repair ». *Human Molecular Genetics* 10 (20): 2253–59. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.20.2253>.
- Gross, M., H. Hanenberg, S. Lobitz, R. Friedl, S. Herterich, R. Dietrich, B. Gruhn, D. Schindler, et H. Hoehn. 2002. « Reverse Mosaicism in Fanconi Anemia: Natural Gene Therapy via Molecular Self-Correction ». *Cytogenetic and Genome Research* 98 (2–3): 126–35. <https://doi.org/10.1159/000069805>.
- Gruenbaum, Yosef, et Ohad Medalia. 2015. « Lamins: The Structure and Protein Complexes ». *Current Opinion in Cell Biology* 32 (février): 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2014.09.009>.
- Gu, Peili, Jin-Na Min, Yang Wang, Chenhui Huang, Tao Peng, Weihang Chai, et Sandy Chang. 2012. « CTC1 Deletion Results in Defective Telomere Replication, Leading to Catastrophic Telomere Loss and Stem Cell Exhaustion: CTC1 Deletion Results in Defective Telomere Replication ». *The EMBO Journal* 31 (10): 2309–21. <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.96>.
- Gudjonsson, Thorkell, Matthias Altmeyer, Velibor Savic, Luis Toledo, Christoffel Dinant, Merete Grøfte, Jirina Bartkova, et al. 2012. « TRIP12 and UBR5 Suppress Spreading of Chromatin Ubiquitylation at Damaged Chromosomes ». *Cell* 150 (4): 697–709. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.039>.
- Guleria, Ayushi, et Sudhir Chandna. 2016. « ATM Kinase: Much More than a DNA Damage Responsive Protein ». *DNA Repair* 39 (mars): 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2015.12.009>.
- Guo, Shuangli, Yanbin Zhang, Fenghua Yuan, Yin Gao, Liya Gu, Isaac Wong, et Guo-Min Li. 2006. « Regulation of Replication Protein A Functions in DNA Mismatch Repair by Phosphorylation ». *Journal of Biological Chemistry* 281 (31): 21607–16. <https://doi.org/10.1074/jbc.M603504200>.
- Guo, Y., M. Kartawinata, J. Li, H. A. Pickett, J. Teo, T. Kilo, P. M. Barbaro, et al. 2014. « Inherited Bone Marrow Failure Associated with Germline Mutation of ACD, the Gene Encoding Telomere Protein TPP1 ». *Blood* 124 (18): 2767–74. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-08-596445>.

- Gupta, Mrinali P., Katherine E. Talcott, David Y. Kim, Suneet Agarwal, et Shizuo Mukai. 2017. « Retinal Findings and a Novel *TINF2* Mutation in Revesz Syndrome: Clinical and Molecular Correlations with Pediatric Retinal Vasculopathies ». *Ophthalmic Genetics* 38 (1): 51–60. <https://doi.org/10.1080/13816810.2016.1275019>.
- Haffner-Luntzer, Melanie, Anna Kovtun, Verena Fischer, Katja Prystaz, Adelheid Hainzl, Carsten M. Kroeger, Ioanna Krikki, Titus J. Brinker, Anita Ignatius, et Martina Gatzka. 2018. « Loss of P53 Compensates Osteopenia in Murine Mysl1 Deficiency ». *The FASEB Journal* 32 (4): 1957–68. <https://doi.org/10.1096/fj.201700871R>.
- Hafstad, Anne D., Adam A. Nabeebaccus, et Ajay M. Shah. 2013. « Novel Aspects of ROS Signalling in Heart Failure ». *Basic Research in Cardiology* 108 (4). <https://doi.org/10.1007/s00395-013-0359-8>.
- Hakem, Razqallah. 2008. « DNA-Damage Repair; the Good, the Bad, and the Ugly ». *The EMBO Journal* 27 (4): 589–605. <https://doi.org/10.1038/emboj.2008.15>.
- Han, Hong-Jin, Ning-Hua Tan, Guang-Zhi Zeng, Jun-Ting Fan, Huo-Qiang Huang, Chang-Jiu Ji, Rui-Rui Jia, et al. 2008. « Natural Inhibitors of DNA Topoisomerase I with Cytotoxicities ». *Chemistry & Biodiversity* 5 (7): 1364–68. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200890124>.
- Hanada, K., et I. D. Hickson. 2007. « Molecular Genetics of RecQ Helicase Disorders ». *Cellular and Molecular Life Sciences* 64 (17): 2306–22. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7121-z>.
- Harding, Shane M., Jonathan A. Boiarsky, et Roger A. Greenberg. 2015. « ATM Dependent Silencing Links Nucleolar Chromatin Reorganization to DNA Damage Recognition ». *Cell Reports* 13 (2): 251–59. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.08.085>.
- Hargreaves, Diana C, et Gerald R Crabtree. 2011. « ATP-Dependent Chromatin Remodeling: Genetics, Genomics and Mechanisms ». *Cell Research* 21 (3): 396–420. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.32>.
- Harper, J. Wade, et Stephen J. Elledge. 2007. « The DNA Damage Response: Ten Years After ». *Molecular Cell* 28 (5): 739–45. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.11.015>.
- Hauer, Michael H., et Susan M. Gasser. 2017. « Chromatin and Nucleosome Dynamics in DNA Damage and Repair ». *Genes & Development* 31 (22): 2204–21. <https://doi.org/10.1101/gad.307702.117>.
- Hayashi, Masaharu, Satoshi Araki, Jun Kohyama, Kei Shioda, et Ryo Fukatsu. 2005. « Oxidative Nucleotide Damage and Superoxide Dismutase Expression in the Brains of Xeroderma Pigmentosum Group A and Cockayne Syndrome ». *Brain and Development* 27 (1): 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2004.04.001>.
- Haycock, P. C., E. E. Heydon, S. Kaptoge, A. S. Butterworth, A. Thompson, et P. Willeit. 2014. « Leucocyte Telomere Length and Risk of Cardiovascular Disease: Systematic Review and Meta-Analysis ». *BMJ* 349 (jul08 3): g4227–g4227. <https://doi.org/10.1136/bmj.g4227>.
- He, H., Y. Wang, X. Guo, S. Ramchandani, J. Ma, M.-F. Shen, D. A. Garcia, et al. 2009. « Pot1b Deletion and Telomerase Haploinsufficiency in Mice Initiate an ATR-Dependent DNA Damage Response and Elicit Phenotypes Resembling Dyskeratosis Congenita ». *Molecular and Cellular Biology* 29 (1): 229–40. <https://doi.org/10.1128/MCB.01400-08>.
- Heeres, James T, et Paul J Hergenrother. 2007. « Poly(ADP-Ribose) Makes a Date with Death ». *Current Opinion in Chemical Biology* 11 (6): 644–53. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.08.038>.
- Heidenreich, Barbara, P Sivaramakrishna Rachakonda, Kari Hemminki, et Rajiv Kumar. 2014. « TERT Promoter Mutations in Cancer Development ». *Current Opinion in Genetics & Development* 24 (février): 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2013.11.005>.
- Henle, Ernst S., et Stuart Linn. 1997. « Formation, Prevention, and Repair of DNA Damage by Iron/Hydrogen Peroxide ». *Journal of Biological Chemistry* 272 (31): 19095–98. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.31.19095>.

- Hepowit, Nathaniel L., Sivakumar Uthandi, Hugo V. Miranda, Micaela Toniutti, Laurence Prunetti, Oliver Olivarez, Ian Mitchell S. De Vera, Gail E. Fanucci, Sixue Chen, et Julie A. Maupin-Furlow. 2012. « Archaeal JAB1/MPN/MOV34 Metalloenzyme (HvJAMM1) Cleaves Ubiquitin-like Small Archaeal Modifier Proteins (SAMPs) from Protein-Conjugates: Archaeal JAMM Isopeptidase ». *Molecular Microbiology* 86 (4): 971–87. <https://doi.org/10.1111/mmi.12038>.
- Hewitt, Graeme, Diana Jurk, Francisco D.M. Marques, Clara Correia-Melo, Timothy Hardy, Agata Gackowska, Rhys Anderson, Morgan Taschuk, Jelena Mann, et João F. Passos. 2012. « Telomeres Are Favoured Targets of a Persistent DNA Damage Response in Ageing and Stress-Induced Senescence ». *Nature Communications* 3 (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms1708>.
- Heyer, Wolf-Dietrich. 2015. « Regulation of Recombination and Genomic Maintenance ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 (8): a016501. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016501>.
- Ho, The Vinh, Angelo Guainazzi, Sems Burak Derkunt, Milica Enoiu, et Orlando D. Schärer. 2011. « Structure-Dependent Bypass of DNA Interstrand Crosslinks by Translesion Synthesis Polymerases ». *Nucleic Acids Research* 39 (17): 7455–64. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr448>.
- Hochstrasser, Tanja, Josef Marksteiner, et Christian Humpel. 2012. « Telomere Length Is Age-Dependent and Reduced in Monocytes of Alzheimer Patients ». *Experimental Gerontology* 47 (2): 160–63. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2011.11.012>.
- Hockemeyer, Dirk, Wilhelm Palm, Tobias Else, Jan-Peter Daniels, Kaori K Takai, Jeffrey Z-S Ye, Catherine E Keegan, Titia de Lange, et Gary D Hammer. 2007. « Telomere Protection by Mammalian Pot1 Requires Interaction with Tpp1 ». *Nature Structural & Molecular Biology* 14 (8): 754–61. <https://doi.org/10.1038/nsmb1270>.
- Hockemeyer, Dirk, Agnel J Sfeir, Jerry W Shay, Woodring E Wright, et Titia de Lange. 2005. « POT1 Protects Telomeres from a Transient DNA Damage Response and Determines How Human Chromosomes End ». *The EMBO Journal* 24 (14): 2667–78. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600733>.
- Hoeijmakers, Jan H.J. 2001. « From Xeroderma Pigmentosum to the Biological Clock Contributions of Dirk Bootsma to Human Genetics ». *Mutation Research/DNA Repair* 485 (1): 43–59. [https://doi.org/10.1016/S0921-8777\(00\)00079-3](https://doi.org/10.1016/S0921-8777(00)00079-3).
- . 2009. « DNA Damage, Aging, and Cancer ». *New England Journal of Medicine* 361 (15): 1475–85. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0804615>.
- Holde, Ken van, et Jordanka Zlatanova. 2007. « Chromatin Fiber Structure: Where Is the Problem Now? ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 18 (5): 651–58. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2007.08.005>.
- Holohan, Brody, Woodring E. Wright, et Jerry W. Shay. 2014. « Telomeropathies: An Emerging Spectrum Disorder ». *The Journal of Cell Biology* 205 (3): 289–99. <https://doi.org/10.1083/jcb.201401012>.
- Horigome, Chihiro, Yukako Oma, Tatsunori Konishi, Roger Schmid, Isabella Marcomini, Michael H. Hauer, Vincent Dion, Masahiko Harata, et Susan M. Gasser. 2014. « SWR1 and INO80 Chromatin Remodelers Contribute to DNA Double-Strand Break Perinuclear Anchorage Site Choice ». *Molecular Cell* 55 (4): 626–39. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.06.027>.
- Horst, Gijsbertus T.J van der, Lisiane Meira, Theo G.M.F Gorgels, Jan de Wit, Susana Velasco-Miguel, James A Richardson, Yvonne Kamp, et al. 2002. « UVB Radiation-Induced Cancer Predisposition in Cockayne Syndrome Group A (Csa) Mutant Mice ». *DNA Repair* 1 (2): 143–57. [https://doi.org/10.1016/S1568-7864\(01\)00010-6](https://doi.org/10.1016/S1568-7864(01)00010-6).

- Horst, Gijsbertus T.J van der, Harry van Steeg, Rob J.W Berg, Alain J van Gool, Jan de Wit, Geert Weeda, Hans Morreau, et al. 1997. « Defective Transcription-Coupled Repair in Cockayne Syndrome B Mice Is Associated with Skin Cancer Predisposition ». *Cell* 89 (3): 425–435. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80223-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80223-8).
- Howard, Sean M., Diana A. Yanez, et Jeremy M. Stark. 2015. « DNA Damage Response Factors from Diverse Pathways, Including DNA Crosslink Repair, Mediate Alternative End Joining ». Édité par Nancy Maizels. *PLOS Genetics* 11 (1): e1004943. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004943>.
- Howlett, N. G. 2002. « Biallelic Inactivation of BRCA2 in Fanconi Anemia ». *Science* 297 (5581): 606–609. <https://doi.org/10.1126/science.1073834>.
- Hoxha, Mirjam, Laura Dioni, Matteo Bonzini, Angela Cecilia Pesatori, Silvia Fustinoni, Domenico Cavallo, Michele Carugno, et al. 2009. « Association between Leukocyte Telomere Shortening and Exposure to Traffic Pollution: A Cross-Sectional Study on Traffic Officers and Indoor Office Workers ». *Environmental Health* 8 (1). <https://doi.org/10.1186/1476-069X-8-41>.
- Høyeraal, Hans M., Jon Lamvik, et Peter Johan Moe. 1970. « CONGENITAL HYPOPLASTIC THROMBOCYTOPENIA AND CEREBRAL MALFORMATIONS IN TWO BROTHERS ». *Acta Paediatrica* 59 (2): 185–191. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1970.tb08986.x>.
- Hreidarsson, S., K. Kristjansson, G. Johannesson, et J. H. Johannsson. 1988. « A Syndrome of Progressive Pancytopenia with Microcephaly, Cerebellar Hypoplasia and Growth Failure ». *Acta Paediatrica* 77 (5): 773–775. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1988.tb10751.x>.
- Hroudová, Jana, Namrata Singh, et Zdeněk Fišar. 2014. « Mitochondrial Dysfunctions in Neurodegenerative Diseases: Relevance to Alzheimer's Disease ». *BioMed Research International* 2014: 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/175062>.
- Hu, Y., R. Scully, B. Sobhian, A. Xie, E. Shestakova, et D. M. Livingston. 2011. « RAP80-Directed Tuning of BRCA1 Homologous Recombination Function at Ionizing Radiation-Induced Nuclear Foci ». *Genes & Development* 25 (7): 685–700. <https://doi.org/10.1101/gad.2011011>.
- Huang, Shurong, Rosa Ana Risques, George M. Martin, Peter S. Rabinovitch, et Junko Oshima. 2008. « Accelerated Telomere Shortening and Replicative Senescence in Human Fibroblasts Overexpressing Mutant and Wild-Type Lamin A ». *Experimental Cell Research* 314 (1): 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2007.08.004>.
- Huang, X F, V Nandakumar, G Tumurkhuu, T Wang, X jiang, B Hong, L Jones, et al. 2016. « Mysm1 Is Required for Interferon Regulatory Factor Expression in Maintaining HSC Quiescence and Thymocyte Development ». *Cell Death & Disease* 7 (6): e2260–e2260. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.162>.
- Huen, Michael S.Y., Shirley M.H. Sy, et Junjie Chen. 2010. « BRCA1 and Its Toolbox for the Maintenance of Genome Integrity ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 11 (2): 138–148. <https://doi.org/10.1038/nrm2831>.
- Humphrey, Glen W., Yonghong Wang, Valya R. Russanova, Tazuko Hirai, Jun Qin, Yoshihiro Nakatani, et Bruce H. Howard. 2001. « Stable Histone Deacetylase Complexes Distinguished by the Presence of SANT Domain Proteins CoREST/Kiaa0071 and Mta-L1 ». *Journal of Biological Chemistry* 276 (9): 6817–6824. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007372200>.
- Huo, Yi, Bing-Yi Li, Zhi-Feng Lin, Wei Wang, Xiao-Xia Jiang, Xu Chen, Wen-Jin Xi, An-Gang Yang, Si-Yi Chen, et Tao Wang. 2018. « MYSM1 Is Essential for Maintaining Hematopoietic Stem Cell (HSC) Quiescence and Survival ». *Medical Science Monitor* 24 (avril): 2541–2549. <https://doi.org/10.12659/MSM.906876>.
- Imai, Kohsuke, Geir Slupphaug, Wen-I Lee, Patrick Revy, Shigeaki Nonoyama, Nadia Catalan, Leman Yel, et al. 2003. « Human Uracil–DNA Glycosylase Deficiency Associated with

- Profoundly Impaired Immunoglobulin Class-Switch Recombination ». *Nature Immunology* 4 (10): 1023–1028. <https://doi.org/10.1038/ni974>.
- Ismail, I. H., R. Davidson, J.-P. Gagne, Z. Z. Xu, G. G. Poirier, et M. J. Hendzel. 2014. « Germline Mutations in BAP1 Impair Its Function in DNA Double-Strand Break Repair ». *Cancer Research* 74 (16): 4282–4294. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-3109>.
- Iyama, Teruaki, et David M. Wilson. 2013. « DNA Repair Mechanisms in Dividing and Non-Dividing Cells ». *DNA Repair* 12 (8): 620–636. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2013.04.015>.
- Jackson, I J. s. d. « Molecular and Developmental Genetics of Mouse Coat Color », 29.
- Jackson, Stephen P., et Jiri Bartek. 2009. « The DNA-Damage Response in Human Biology and Disease ». *Nature* 461 (7267): 1071–1078. <https://doi.org/10.1038/nature08467>.
- Jackson, Stephen P., et Daniel Durocher. 2013. « Regulation of DNA Damage Responses by Ubiquitin and SUMO ». *Molecular Cell* 49 (5): 795–807. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.01.017>.
- Jacquemont, Céline, et Toshiyasu Taniguchi. 2007. « The Fanconi Anemia Pathway and Ubiquitin ». *BMC Biochemistry* 8 (Suppl 1): S10. <https://doi.org/10.1186/1471-2091-8-S1-S10>.
- Jacquet, Karine, Amélie Fradet-Turcotte, Nikita Avvakumov, Jean-Philippe Lambert, Céline Roques, Raj K. Pandita, Eric Paquet, et al. 2016. « The TIP60 Complex Regulates Bivalent Chromatin Recognition by 53BP1 through Direct H4K20me Binding and H2AK15 Acetylation ». *Molecular Cell* 62 (3): 409–421. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.03.031>.
- Jahn, Arne, Grishma Rane, Maciej Paszkowski–Rogacz, Sergi Sayols, Alina Bluhm, Chung–Ting Han, Irena Draškovič, et al. 2017. « ZBTB48 Is Both a Vertebrate Telomere–binding Protein and a Transcriptional Activator ». *EMBO Reports* 18 (6): 929–946. <https://doi.org/10.15252/embr.201744095>.
- Janoušková, Eliška, Ivona Nečasová, Jana Pavloušková, Michal Zimmermann, Milan Hluchý, Victoria Marini, Monika Nováková, et Ctirad Hofr. 2015. « Human Rap1 Modulates TRF2 Attraction to Telomeric DNA ». *Nucleic Acids Research* 43 (5): 2691–2700. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv097>.
- Jeffers, John R., Evan Parganas, Youngsoo Lee, Chunying Yang, JinLing Wang, Jennifer Brennan, Kirsteen H. MacLean, et al. 2003. « Puma Is an Essential Mediator of P53-Dependent and -Independent Apoptotic Pathways ». *Cancer Cell* 4 (4): 321–328. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00244-7](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00244-7).
- Jeggo, Penny A., et Jessica A. Downs. 2014. « Roles of Chromatin Remodellers in DNA Double Strand Break Repair ». *Experimental Cell Research* 329 (1): 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.09.023>.
- Jeppesen, Dennis Kjølhed, Vilhelm A. Bohr, et Tinna Stevnsner. 2011. « DNA Repair Deficiency in Neurodegeneration ». *Progress in Neurobiology* 94 (2): 166–200. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.04.013>.
- Jiang, Bingcheng, J.N. Mark Glover, et Michael Weinfeld. 2017. « Neurological Disorders Associated with DNA Strand-Break Processing Enzymes ». *Mechanisms of Ageing and Development* 161 (janvier): 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2016.07.009>.
- Jiang, Xiao-Xia, Quan Nguyen, YuChia Chou, Tao Wang, Vijayalakshmi Nandakumar, Peter Yates, Lindsey Jones, et al. 2011. « Control of B Cell Development by the Histone H2A Deubiquitinase MYSM1 ». *Immunity* 35 (6): 883–896. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.11.010>.
- Jiricny, Josef. 2006. « The Multifaceted Mismatch-Repair System ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7 (5): 335–346. <https://doi.org/10.1038/nrm1907>.
- Joo, Heui-Yun, Ling Zhai, Chunying Yang, Shuyi Nie, Hediye Erdjument-Bromage, Paul Tempst, Chenbei Chang, et Hengbin Wang. 2007. « Regulation of Cell Cycle Progression and Gene Expression by H2A Deubiquitination ». *Nature* 449 (7165): 1068–1072. <https://doi.org/10.1038/nature06256>.

- Kaesler, Matthias D., Aaron Aslanian, Meng-Qiu Dong, John R. Yates, et Beverly M. Emerson. 2008. « BRD7, a Novel PBAF-Specific SWI/SNF Subunit, Is Required for Target Gene Activation and Repression in Embryonic Stem Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 283 (47): 32254–63. <https://doi.org/10.1074/jbc.M806061200>.
- Kakaroukas, Andreas, Jessica A Downs, et Penny A Jeggo. 2015a. « The PBAF Chromatin Remodeling Complex Represses Transcription and Promotes Rapid Repair at DNA Double-Strand Breaks ». *Molecular & Cellular Oncology* 2 (1): e970072. <https://doi.org/10.4161/23723548.2014.970072>.
- . 2015b. « The PBAF Chromatin Remodeling Complex Represses Transcription and Promotes Rapid Repair at DNA Double-Strand Breaks ». *Molecular & Cellular Oncology* 2 (1): e970072. <https://doi.org/10.4161/23723548.2014.970072>.
- Kakaroukas, Andreas, Amani Ismail, Anna L. Chambers, Enriqueta Riballo, Alex D. Herbert, Julia Künzel, Markus Löbrich, Penny A. Jeggo, et Jessica A. Downs. 2014. « Requirement for PBAF in Transcriptional Repression and Repair at DNA Breaks in Actively Transcribed Regions of Chromatin ». *Molecular Cell* 55 (5): 723–32. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.06.028>.
- Kalathiya, Umesh, Monikaben Padariya, et Maciej Baginski. 2017. « Molecular Basis and Quantitative Assessment of TRF1 and TRF2 Protein Interactions with TIN2 and Apollo Peptides ». *European Biophysics Journal* 46 (2): 171–87. <https://doi.org/10.1007/s00249-016-1157-7>.
- Kalb, Reinhard, Donna L. Mallery, Conor Larkin, Jeffrey T.J. Huang, et Kevin Hiom. 2014. « BRCA1 Is a Histone-H2A-Specific Ubiquitin Ligase ». *Cell Reports* 8 (4): 999–1005. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.07.025>.
- Kannengiesser, Caroline, Raphael Borie, Christelle Ménard, Marion Réocreux, Patrick Nitschké, Steven Gazal, Hervé Mal, et al. 2015. « Heterozygous *RTEL1* Mutations Are Associated with Familial Pulmonary Fibrosis ». *European Respiratory Journal* 46 (2): 474–85. <https://doi.org/10.1183/09031936.00040115>.
- Kantidze, O L, A K Velichko, A V Luzhin, et S V Razin. s. d. « Heat Stress-Induced DNA Damage », 4.
- Karlseder, Jan, Kristina Hoke, Olga K Mirzoeva, Christopher Bakkenist, Michael B Kastan, John H. J Petrini, et Titia de Lange. 2004. « The Telomeric Protein TRF2 Binds the ATM Kinase and Can Inhibit the ATM-Dependent DNA Damage Response ». Édité par Steve Elledge. *PLoS Biology* 2 (8): e240. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020240>.
- Kawamoto, Takuo, Kasumi Araki, Eiichiro Sonoda, Yukiko M. Yamashita, Kouji Harada, Koji Kikuchi, Chikahide Masutani, et al. 2005. « Dual Roles for DNA Polymerase η in Homologous DNA Recombination and Translesion DNA Synthesis ». *Molecular Cell* 20 (5): 793–99. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.10.016>.
- Keeney, S., et N. Kleckner. 1995. « Covalent Protein-DNA Complexes at the 5' Strand Termini of Meiosis-Specific Double-Strand Breaks in Yeast. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92 (24): 11274–78. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.24.11274>.
- Keeney, Scott. 2008. « Spo11 and the Formation of DNA Double-Strand Breaks in Meiosis ». In *Recombination and Meiosis*, édité par Richard Egel et Dirk-Henner Lankenau, 2:81–123. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/7050_2007_026.
- Keller, Rachel B., Katelyn E. Gagne, G. Naheed Usmani, George K. Asdourian, David A. Williams, Inga Hofmann, et Suneet Agarwal. 2012. « CTC1 Mutations in a Patient with Dyskeratosis Congenita ». *Pediatric Blood & Cancer* 59 (2): 311–14. <https://doi.org/10.1002/pbc.24193>.
- Kent, Tatiana, Gurushankar Chandramouly, Shane Michael McDevitt, Ahmet Y Ozdemir, et Richard T Pomerantz. 2015. « Mechanism of Microhomology-Mediated End-Joining Promoted by Human DNA Polymerase θ ». *Nature Structural & Molecular Biology* 22 (3): 230–37. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2961>.

- Killoran, Michael P., et James L. Keck. 2006. « Sit down, Relax and Unwind: Structural Insights into RecQ Helicase Mechanisms ». *Nucleic Acids Research* 34 (15): 4098–4105. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl538>.
- Kim, H., et A. D. D'Andrea. 2012. « Regulation of DNA Cross-Link Repair by the Fanconi Anemia/BRCA Pathway ». *Genes & Development* 26 (13): 1393–1408. <https://doi.org/10.1101/gad.195248.112>.
- Kim, Jin-Man, Kyunghwan Kim, Vasu Punj, Gangning Liang, Tobias S. Ulmer, Wange Lu, et Woojin An. 2015. « Linker Histone H1.2 Establishes Chromatin Compaction and Gene Silencing through Recognition of H3K27me3 ». *Scientific Reports* 5 (1). <https://doi.org/10.1038/srep16714>.
- Kim, Jong-Soo, Jason T. Heale, Weihua Zeng, Xiangduo Kong, Tatiana B. Krasieva, Alexander R. Ball, et Kyoko Yokomori. 2007. « In Situ Analysis of DNA Damage Response and Repair Using Laser Microirradiation ». In *Methods in Cell Biology*, 82:377–407. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(06\)82013-3](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(06)82013-3).
- Kim, Jun Hyun, Malgorzata Grosbart, Roopesh Anand, Claire Wyman, Petr Cejka, et John H.J. Petrini. 2017. « The Mre11-Nbs1 Interface Is Essential for Viability and Tumor Suppression ». *Cell Reports* 18 (2): 496–507. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.035>.
- Kim, N., M. Piatyszek, K. Prowse, C. Harley, M. West, P. Ho, G. Coviello, W. Wright, S. Weinrich, et J. Shay. 1994. « Specific Association of Human Telomerase Activity with Immortal Cells and Cancer ». *Science* 266 (5193): 2011–15. <https://doi.org/10.1126/science.7605428>.
- Kim, Sahn-ho, Christian Beausejour, Albert R. Davalos, Patrick Kaminker, Seok-Jin Heo, et Judith Campisi. 2004. « TIN2 Mediates Functions of TRF2 at Human Telomeres ». *Journal of Biological Chemistry* 279 (42): 43799–804. <https://doi.org/10.1074/jbc.M408650200>.
- Kim, Wanil, Andrew T. Ludlow, Jaewon Min, Jerome D. Robin, Guido Stadler, Ilgen Mender, Tsung-Po Lai, Ning Zhang, Woodring E. Wright, et Jerry W. Shay. 2016. « Regulation of the Human Telomerase Gene TERT by Telomere Position Effect—Over Long Distances (TPE-OLD): Implications for Aging and Cancer ». Édité par Daniel Durocher. *PLOS Biology* 14 (12): e2000016. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2000016>.
- Kinner, A., W. Wu, C. Staudt, et G. Iliakis. 2008. « -H2AX in Recognition and Signaling of DNA Double-Strand Breaks in the Context of Chromatin ». *Nucleic Acids Research* 36 (17): 5678–94. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn550>.
- Kirwan, M., et I Dokal. 2007. « Dyskeratosis Congenita: A Genetic Disorder of Many Faces ». *Clinical Genetics* 73 (2): 103–12. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00923.x>.
- Kleijer, Wim J., Vincent Laugel, Mark Berneburg, Tiziana Nardo, Heather Fawcett, Alexei Gratchev, Nicolaas G.J. Jaspers, Alain Sarasin, Miria Stefanini, et Alan R. Lehmann. 2008. « Incidence of DNA Repair Deficiency Disorders in Western Europe: Xeroderma Pigmentosum, Cockayne Syndrome and Trichothiodystrophy ». *DNA Repair* 7 (5): 744–50. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2008.01.014>.
- Klug, Aaron. 2010. « The Discovery of Zinc Fingers and Their Development for Practical Applications in Gene Regulation and Genome Manipulation ». *Quarterly Reviews of Biophysics* 43 (01): 1–21. <https://doi.org/10.1017/S0033583510000089>.
- Klug, Alex R., Michael B. Harbut, R. Stephen Lloyd, et Irina G. Minko. 2012. « Replication Bypass of N²-Deoxyguanosine Interstrand Cross-Links by Human DNA Polymerases η and ι ». *Chemical Research in Toxicology* 25 (3): 755–62. <https://doi.org/10.1021/tx300011w>.
- Knipscheer, P., M. Raschle, A. Smogorzewska, M. Enoiu, T. V. Ho, O. D. Scharer, S. J. Elledge, et J. C. Walter. 2009. « The Fanconi Anemia Pathway Promotes Replication-Dependent DNA Interstrand Cross-Link Repair ». *Science* 326 (5960): 1698–1701. <https://doi.org/10.1126/science.1182372>.
- Kocak, Hande, Bari J. Ballew, Kamlesh Bisht, Rebecca Eggebeen, Belynda D. Hicks, Shalabh Suman, Adri O'Neil, et al. 2014. « Hoyeraal-Hreidarsson Syndrome Caused by a Germline

- Mutation in the TEL Patch of the Telomere Protein TPP1 ». *Genes & Development* 28 (19): 2090–2102. <https://doi.org/10.1101/gad.248567.114>.
- Kohli, Manu, et Timothy J. Jorgensen. 1999. « The Influence of SV40 Immortalization of Human Fibroblasts on P53-Dependent Radiation Responses ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 257 (1): 168–176. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0389>.
- Kolas, N. K., J. R. Chapman, S. Nakada, J. Ylanko, R. Chahwan, F. D. Sweeney, S. Panier, et al. 2007. « Orchestration of the DNA-Damage Response by the RNF8 Ubiquitin Ligase ». *Science* 318 (5856): 1637–1640. <https://doi.org/10.1126/science.1150034>.
- Kowalczykowski, Stephen C. 2015. « An Overview of the Molecular Mechanisms of Recombinational DNA Repair ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 (11): a016410. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016410>.
- Kraakman-van der Zwet, Maria, Wilhelmina J.I Overkamp, Anna A Friedl, Binie Klein, Gerald W.C.T Verhaegh, Nicolaas G.J Jaspers, Alina T Midro, Friederike Eckardt-Schupp, Paul H.M Lohman, et Małgorzata Z Zdzienicka. 1999. « Immortalization and Characterization of Nijmegen Breakage Syndrome Fibroblasts ». *Mutation Research/DNA Repair* 434 (1): 17–27. [https://doi.org/10.1016/S0921-8777\(99\)00009-9](https://doi.org/10.1016/S0921-8777(99)00009-9).
- Kraemer, K.H., N.J. Patronas, R. Schiffmann, B.P. Brooks, D. Tamura, et J.J. DiGiovanna. 2007. « Xeroderma Pigmentosum, Trichothiodystrophy and Cockayne Syndrome: A Complex Genotype–Phenotype Relationship ». *Neuroscience* 145 (4): 1388–1396. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.12.020>.
- Kraemer, K.H., D. Tamura, S.G. Khan, et J.J. DiGiovanna. 2013. « Burning Issues in the Diagnosis of Xeroderma Pigmentosum ». *British Journal of Dermatology* 169 (6): 1176–1176. <https://doi.org/10.1111/bjd.12707>.
- Krejci, L., V. Altmannova, M. Spirek, et X. Zhao. 2012. « Homologous Recombination and Its Regulation ». *Nucleic Acids Research* 40 (13): 5795–5818. <https://doi.org/10.1093/nar/gks270>.
- Krokan, H. E., et M. Bjoras. 2013. « Base Excision Repair ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5 (4): a012583–a012583. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012583>.
- Kruhlak, Michael J., Arkady Celeste, Graham Dellaire, Oscar Fernandez-Capetillo, Waltraud G. Müller, James G. McNally, David P. Bazett-Jones, et André Nussenzweig. 2006. « Changes in Chromatin Structure and Mobility in Living Cells at Sites of DNA Double-Strand Breaks ». *The Journal of Cell Biology* 172 (6): 823–834. <https://doi.org/10.1083/jcb.200510015>.
- Kubic, J D, E C Little, J W Lui, T Iizuka, et D Lang. 2015. « PAX3 and ETS1 Synergistically Activate MET Expression in Melanoma Cells ». *Oncogene* 34 (38): 4964–4974. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.420>.
- Kumar, D., A. L. Abdulovic, J. Viberg, A. K. Nilsson, T. A. Kunkel, et A. Chabes. 2011. « Mechanisms of Mutagenesis in Vivo Due to Imbalanced DNTP Pools ». *Nucleic Acids Research* 39 (4): 1360–1371. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq829>.
- Kunkel, T. A. 2009. « Evolving Views of DNA Replication (In)Fidelity ». *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 74 (0): 91–101. <https://doi.org/10.1101/sqb.2009.74.027>.
- Kunkel, Thomas A., et Dorothy A. Erie. 2005. « DNA MISMATCH REPAIR ». *Annual Review of Biochemistry* 74 (1): 681–710. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.74.082803.133243>.
- Kusumoto-Matsuo, Rika, Patricia L. Opreko, Dale Ramsden, Hidetoshi Tahara, et Vilhelm A. Bohr. 2010. « Cooperation of DNA-PKcs and WRN Helicase in the Maintenance of Telomeric D-Loops ». *Aging* 2 (5): 274–284. <https://doi.org/10.18632/aging.100141>.
- Lambrus, Bramwell G., Yumi Uetake, Kevin M. Clutario, Vikas Daggubati, Michael Snyder, Greenfield Sluder, et Andrew J. Holland. 2015. « P53 Protects against Genome Instability Following Centriole Duplication Failure ». *The Journal of Cell Biology* 210 (1): 63–77. <https://doi.org/10.1083/jcb.201502089>.

- Lan, L., S. Nakajima, Y. Oohata, M. Takao, S. Okano, M. Masutani, S. H. Wilson, et A. Yasui. 2004. « In Situ Analysis of Repair Processes for Oxidative DNA Damage in Mammalian Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101 (38): 13738-43. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406048101>.
- Lancini, Cesare, Paul C.M. van den Berk, Joseph H.A. Vissers, Gaetano Gargiulo, Ji-Ying Song, Danielle Hulsman, Michela Serresi, et al. 2014a. « Tight Regulation of Ubiquitin-Mediated DNA Damage Response by USP3 Preserves the Functional Integrity of Hematopoietic Stem Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 211 (9): 1759-77. <https://doi.org/10.1084/jem.20131436>.
- . 2014b. « Tight Regulation of Ubiquitin-Mediated DNA Damage Response by USP3 Preserves the Functional Integrity of Hematopoietic Stem Cells ». *The Journal of Experimental Medicine* 211 (9): 1759-77. <https://doi.org/10.1084/jem.20131436>.
- Landers, John E, Suzanne L Cassel, et Donna L George. s. d. « Translational Enhancement of Mdm2 Oncogene Expression in Human Tumor Cells Containing a Stabilized Wild-Type P53 Protein », 8.
- Lange, T. de. 2005. « Shelterin: The Protein Complex That Shapes and Safeguards Human Telomeres ». *Genes & Development* 19 (18): 2100-2110. <https://doi.org/10.1101/gad.1346005>.
- Lange, T de, L Shiue, R M Myers, D R Cox, S L Naylor, A M Killery, et H E Varmus. 1990. « Structure and Variability of Human Chromosome Ends. » *Molecular and Cellular Biology* 10 (2): 518-27. <https://doi.org/10.1128/MCB.10.2.518>.
- Laugel, Vincent. 2013. « Cockayne Syndrome: The Expanding Clinical and Mutational Spectrum ». *Mechanisms of Ageing and Development* 134 (5-6): 161-70. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2013.02.006>.
- Le Guen, Tangui, Laurent Jullien, Mike Schertzer, Axelle Lefebvre, Laetitia Kermasson, Jean-Pierre de Villartay, Arturo Londoño-Vallejo, et Patrick Revy. 2013. « RTEL1, une hélicase de l'ADN essentielle à la stabilité du génome ». *médecine/sciences* 29 (12): 1138-44. <https://doi.org/10.1051/medsci/20132912018>.
- Le Guen, Tangui, Fabien Touzot, Isabelle André-Schmutz, Chantal Lagresle-Peyrou, Benoit France, Laetitia Kermasson, Nathalie Lambert, et al. 2015. « An in Vivo Genetic Reversion Highlights the Crucial Role of Myb-Like, SWIRM, and MPN Domains 1 (MYSM1) in Human Hematopoiesis and Lymphocyte Differentiation ». *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 136 (6): 1619-1626.e5. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.06.008>.
- Leach, Fredrick S., Nicholas C. Nicolaides, Nickolas Papadopoulos, Bo Liu, Jin Jen, Ramon Parsons, Päivi Peltomäki, et al. 1993. « Mutations of a MutS Homolog in Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer ». *Cell* 75 (6): 1215-25. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90330-S](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90330-S).
- Lee, Bo Yun, Jung A. Han, Jun Sub Im, Amelia Morrone, Kimberly Johung, Edward C. Goodwin, Wim J. Kleijer, Daniel DiMaio, et Eun Seong Hwang. 2006. « Senescence-Associated β -Galactosidase Is Lysosomal β -Galactosidase ». *Aging Cell* 5 (2): 187-95. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00199.x>.
- Lee, James J., Jan H. Beumer, et Edward Chu. 2016. « Therapeutic Drug Monitoring of 5-Fluorouracil ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 78 (3): 447-64. <https://doi.org/10.1007/s00280-016-3054-2>.
- Lee, Ji-Hoon, Michael R. Mand, Rajashree A. Deshpande, Eri Kinoshita, Soo-Hyun Yang, Claire Wyman, et Tanya T. Paull. 2013. « Ataxia Telangiectasia-Mutated (ATM) Kinase Activity Is Regulated by ATP-Driven Conformational Changes in the Mre11/Rad50/Nbs1 (MRN) Complex ». *Journal of Biological Chemistry* 288 (18): 12840-51. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.460378>.

- Lee, Kyungwoo, et Lauren S Gollahon. 2014. « Zscan4 Interacts Directly with Human Rap1 in Cancer Cells Regardless of Telomerase Status ». *Cancer Biology & Therapy* 15 (8): 1094–1105. <https://doi.org/10.4161/cbt.29220>.
- Lee, Y. 2000. « Defective Neurogenesis Resulting from DNA Ligase IV Deficiency Requires Atm ». *Genes & Development* 14 (20): 2576–80. <https://doi.org/10.1101/gad.837100>.
- Lee-Theilen, Mieun, Allysia J Matthews, Dierdre Kelly, Simin Zheng, et Jayanta Chaudhuri. 2011. « CtIP Promotes Microhomology-Mediated Alternative End Joining during Class-Switch Recombination ». *Nature Structural & Molecular Biology* 18 (1): 75–79. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1942>.
- Lehmann, A. 2003. « DNA Repair-Deficient Diseases, Xeroderma Pigmentosum, Cockayne Syndrome and Trichothiodystrophy ». *Biochimie* 85 (11): 1101–11. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2003.09.010>.
- Lehmann, Alan R. 2011. « Xeroderma Pigmentosum », 6.
- Lei, Ming, Elaine R Podell, et Thomas R Cech. 2004. « Structure of Human POT1 Bound to Telomeric Single-Stranded DNA Provides a Model for Chromosome End-Protection ». *Nature Structural & Molecular Biology* 11 (12): 1223–29. <https://doi.org/10.1038/nsmb867>.
- Levikova, Maryna, Cosimo Pinto, et Petr Cejka. 2017. « The Motor Activity of DNA2 Functions as an SsDNA Translocase to Promote DNA End Resection ». *Genes & Development* 31 (5): 493–502. <https://doi.org/10.1101/gad.295196.116>.
- Levine, Arnold J., et Shelley L. Berger. 2017. « The Interplay between Epigenetic Changes and the P53 Protein in Stem Cells ». *Genes & Development* 31 (12): 1195–1201. <https://doi.org/10.1101/gad.298984.117>.
- Levine, Arnold J., et Moshe Oren. 2009. « The First 30 Years of P53: Growing Ever More Complex ». *Nature Reviews Cancer* 9 (10): 749–58. <https://doi.org/10.1038/nrc2723>.
- Li, Gang, Frederick W. Alt, Hwei-Ling Cheng, James W. Brush, Peter H. Goff, Mike M. Murphy, Sonia Franco, Yu Zhang, et Shan Zha. 2008. « Lymphocyte-Specific Compensation for XLF/Cernunnos End-Joining Functions in V(D)J Recombination ». *Molecular Cell* 31 (5): 631–40. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.07.017>.
- Li, Jiali, Jianmin Chen, Christopher L Ricupero, Ronald P Hart, Melanie S Schwartz, Alexander Kusnecov, et Karl Herrup. 2012. « Nuclear Accumulation of HDAC4 in ATM Deficiency Promotes Neurodegeneration in Ataxia Telangiectasia ». *Nature Medicine* 18 (5): 783–90. <https://doi.org/10.1038/nm.2709>.
- Li, Julia Su Zhou, Javier Miralles Fusté, Tatevik Simavorian, Cristina Bartocci, Jill Tsai, Jan Karlseder, et Eros Lazzarini Denchi. 2017. « TZAP: A Telomere-Associated Protein Involved in Telomere Length Control ». *Science* 355 (6325): 638–41. <https://doi.org/10.1126/science.aah6752>.
- Li, Ping, Yan-Mei Yang, Suzi Sanchez, Dian-Chao Cui, Rui-Jie Dang, Xiao-Yan Wang, Qiu-Xia Lin, et al. 2016. « Deubiquitinase MYSM1 Is Essential for Normal Bone Formation and Mesenchymal Stem Cell Differentiation ». *Scientific Reports* 6 (1). <https://doi.org/10.1038/srep22211>.
- Li, Tongyuan, Ning Kon, Le Jiang, Minjia Tan, Thomas Ludwig, Yingming Zhao, Richard Baer, et Wei Gu. 2012. « Tumor Suppression in the Absence of P53-Mediated Cell-Cycle Arrest, Apoptosis, and Senescence ». *Cell* 149 (6): 1269–83. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.04.026>.
- Li, Yongmin, Jingwen Li, He Liu, Yanlong Liu, et Binbin Cui. 2017. « Expression of MYSM1 Is Associated with Tumor Progression in Colorectal Cancer ». Édité par Hiromu Suzuki. *PLOS ONE* 12 (5): e0177235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177235>.
- Li, Zhizhong, Ru Cao, Ming Wang, Michael P. Myers, Yi Zhang, et Rui-Ming Xu. 2006. « Structure of a Bmi-1-Ring1B Polycomb Group Ubiquitin Ligase Complex ». *Journal of Biological Chemistry* 281 (29): 20643–49. <https://doi.org/10.1074/jbc.M602461200>.

- Liakath-Ali, Kifayathullah, Valerie E. Vancollie, Emma Heath, Damian P. Smedley, Jeanne Estabel, David Sunter, Tia DiTommaso, et al. 2014. « Novel Skin Phenotypes Revealed by a Genome-Wide Mouse Reverse Genetic Screen ». *Nature Communications* 5 (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms4540>.
- Liang, L., L. Deng, S. C. Nguyen, X. Zhao, C. D. Maulion, C. Shao, et J. A. Tischfield. 2008. « Human DNA Ligases I and III, but Not Ligase IV, Are Required for Microhomology-Mediated End Joining of DNA Double-Strand Breaks ». *Nucleic Acids Research* 36 (10): 3297–3310. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn184>.
- Lim, Byung Chan, Seong-Keun Yoo, Seungbok Lee, Jong-Yeon Shin, Hee Hwang, Jong Hee Chae, Yong Seung Hwang, Jeong-Sun Seo, Jong-Il Kim, et Ki Joong Kim. 2014. « Hoyeraal–Hreidarsson Syndrome with a DKC1 Mutation Identified by Whole-Exome Sequencing ». *Gene* 546 (2): 425–429. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.06.011>.
- Lin, Xiaozeng, Diane Ojo, Fengxiang Wei, Nicholas Wong, Yan Gu, et Damu Tang. 2015. « A Novel Aspect of Tumorigenesis—BMI1 Functions in Regulating DNA Damage Response ». *Biomolecules* 5 (4): 3396–3415. <https://doi.org/10.3390/biom5043396>.
- Liou, Geou-Yarh, et Peter Storz. 2010. « Reactive Oxygen Species in Cancer ». *Free Radical Research* 44 (5): 479–496. <https://doi.org/10.3109/10715761003667554>.
- Liu, Baohua, Jianming Wang, Kui Ming Chan, Wai Mui Tjia, Wen Deng, Xinyuan Guan, Jian-dong Huang, et al. 2005. « Genomic Instability in Laminopathy-Based Premature Aging ». *Nature Medicine* 11 (7): 780–785. <https://doi.org/10.1038/nm1266>.
- Liu, Qinghua, Saritha Guntuku, Xian-Shu Cui, Shuhei Matsuoka, David Cortez, Katsuyuki Tamai, Guangbin Luo, et al. s. d. « Chk1 Is an Essential Kinase That Is Regulated by Atr and Required for the G2/M DNA Damage Checkpoint », 13.
- Liu, Yan, Shannon E. Elf, Yasuhiko Miyata, Goro Sashida, Yuhui Liu, Gang Huang, Silvana Di Giandomenico, et al. 2009. « P53 Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence ». *Cell Stem Cell* 4 (1): 37–48. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.11.006>.
- Liu, Zhihe, Huimei Lu, Honglian Shi, Yuchun Du, Jian Yu, Sheng Gu, Xian Chen, Ke Jian Liu, et Chien-an A. Hu. 2005. « PUMA Overexpression Induces Reactive Oxygen Species Generation and Proteasome-Mediated Stathmin Degradation in Colorectal Cancer Cells ». *Cancer Research* 65 (5): 1647–1654. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-1754>.
- Löbrich, Markus, et Penny Jeggo. 2017. « A Process of Resection-Dependent Nonhomologous End Joining Involving the Goddess Artemis ». *Trends in Biochemical Sciences* 42 (9): 690–701. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2017.06.011>.
- Loeb, Lawrence A., et Raymond J. Monnat. 2008. « DNA Polymerases and Human Disease ». *Nature Reviews Genetics* 9 (8): 594–604. <https://doi.org/10.1038/nrg2345>.
- Loidl, Josef. 2016. « Conservation and Variability of Meiosis Across the Eukaryotes ». *Annual Review of Genetics* 50 (1): 293–316. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-035100>.
- Long, D. T., M. Raschle, V. Joukov, et J. C. Walter. 2011. « Mechanism of RAD51-Dependent DNA Interstrand Cross-Link Repair ». *Science* 333 (6038): 84–87. <https://doi.org/10.1126/science.1204258>.
- Lou, Zhenjun, Jun Wei, Harold Riethman, Joseph A Baur, Regina Voglauer, Jerry W Shay, et Woodring E Wright. 2009. « Telomere Length Regulates ISG15 Expression in Human Cells », 14.
- Loughery, Jayne, Miranda Cox, Linda M. Smith, et David W. Meek. 2014. « Critical Role for P53-Serine 15 Phosphorylation in Stimulating Transactivation at P53-Responsive Promoters ». *Nucleic Acids Research* 42 (12): 7666–7680. <https://doi.org/10.1093/nar/gku501>.
- Lu, Weisi, Yi Zhang, Dan Liu, Zhou Songyang, et Ma Wan. 2013. « Telomeres—Structure, Function, and Regulation ». *Experimental Cell Research* 319 (2): 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.09.005>.

- Luijsterburg, Martijn S., et Haico van Attikum. 2011. « Chromatin and the DNA Damage Response: The Cancer Connection ». *Molecular Oncology* 5 (4): 349–67. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2011.06.001>.
- Lukas, Claudia, Jacob Falck, Jirina Bartkova, Jiri Bartek, et Jiri Lukas. 2003. « Distinct Spatiotemporal Dynamics of Mammalian Checkpoint Regulators Induced by DNA Damage ». *Nature Cell Biology* 5 (3): 255–60. <https://doi.org/10.1038/ncb945>.
- Luo, Zhenhua, Xuyang Feng, Haoli Wang, Weiyi Xu, Yong Zhao, Wenbin Ma, Songshan Jiang, Dan Liu, Junjiu Huang, et Zhou Songyang. 2015. « Mir-23a Induces Telomere Dysfunction and Cellular Senescence by Inhibiting TRF2 Expression ». *Aging Cell* 14 (3): 391–99. <https://doi.org/10.1111/accel.12304>.
- Mackay, Douglas R., Katharine S. Ullman, et Christopher K. Rodesch. 2010. « Time-Lapse Imaging of Mitosis After SiRNA Transfection ». *Journal of Visualized Experiments*, n° 40 (juin). <https://doi.org/10.3791/1878>.
- Maeshima, Kazuhiro, Ryosuke Imai, Sachiko Tamura, et Tadasu Nozaki. 2014. « Chromatin as Dynamic 10-Nm Fibers ». *Chromosoma* 123 (3): 225–37. <https://doi.org/10.1007/s00412-014-0460-2>.
- Mahadevaiah, Shantha K., James M.A. Turner, Frédéric Baudat, Emmy P. Rogakou, Peter de Boer, Josefa Blanco-Rodríguez, Maria Jasin, Scott Keeney, William M. Bonner, et Paul S. Burgoyne. 2001. « Recombinational DNA Double-Strand Breaks in Mice Precede Synapsis ». *Nature Genetics* 27 (3): 271–76. <https://doi.org/10.1038/85830>.
- Mahaney, Brandi L., Michal Hammel, Katheryn Meek, John A. Tainer, et Susan P. Lees-Miller. 2013. « XRCC4 and XLF Form Long Helical Protein Filaments Suitable for DNA End Protection and Alignment to Facilitate DNA Double Strand Break Repair ». *Biochemistry and Cell Biology* 91 (1): 31–41. <https://doi.org/10.1139/bcb-2012-0058>.
- Majewski, I. J., M. E. Ritchie, B. Phipson, J. Corbin, M. Pakusch, A. Ebert, M. Busslinger, et al. 2010. « Opposing Roles of Polycomb Repressive Complexes in Hematopoietic Stem and Progenitor Cells ». *Blood* 116 (5): 731–39. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-12-260760>.
- Makhija, Ekta, D. S. Jokhun, et G. V. Shivashankar. 2016. « Nuclear Deformability and Telomere Dynamics Are Regulated by Cell Geometric Constraints ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (1): E32–40. <https://doi.org/10.1073/pnas.1513189113>.
- Mali, Prashant, Kevin M Esvelt, et George M Church. 2013. « Cas9 as a Versatile Tool for Engineering Biology ». *Nature Methods* 10 (10): 957–63. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2649>.
- Malric, Aurore, Anne-Sophie Defachelles, Thierry Leblanc, Brigitte Lescoeur, Brigitte Lacour, Michel Peuchmaur, Claude-Alain Maurage, et al. 2015. « Fanconi Anemia and Solid Malignancies in Childhood: A National Retrospective Study: Fanconi Anemia and Malignancies in Childhood ». *Pediatric Blood & Cancer* 62 (3): 463–70. <https://doi.org/10.1002/pbc.25303>.
- Marechal, A., et L. Zou. 2013. « DNA Damage Sensing by the ATM and ATR Kinases ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5 (9): a012716–a012716. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012716>.
- Maréchal, Alexandre, et Lee Zou. 2015. « RPA-Coated Single-Stranded DNA as a Platform for Post-Translational Modifications in the DNA Damage Response ». *Cell Research* 25 (1): 9–23. <https://doi.org/10.1038/cr.2014.147>.
- Marion, Rosa M., Katerina Strati, Han Li, Agueda Tejera, Stefan Schoeftner, Sagrario Ortega, Manuel Serrano, et Maria A. Blasco. 2009. « Telomeres Acquire Embryonic Stem Cell Characteristics in Induced Pluripotent Stem Cells ». *Cell Stem Cell* 4 (2): 141–54. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.12.010>.
- Martadinata, Herry, Brahim Heddi, Kah Wai Lim, et Anh Tuân Phan. 2011. « Structure of Long Human Telomeric RNA (TERRA): G-Quadruplexes Formed by Four and Eight UUAGGG

- Repeats Are Stable Building Blocks ». *Biochemistry* 50 (29): 6455–61. <https://doi.org/10.1021/bi200569f>.
- Marteijn, Jurgen A., Hannes Lans, Wim Vermeulen, et Jan H. J. Hoeijmakers. 2014. « Understanding Nucleotide Excision Repair and Its Roles in Cancer and Ageing ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 15 (7): 465–81. <https://doi.org/10.1038/nrm3822>.
- Mateos-Gomez, Pedro A., Fade Gong, Nidhi Nair, Kyle M. Miller, Eros Lazzerini-Denchi, et Agnel Sfeir. 2015. « Mammalian Polymerase θ Promotes Alternative NHEJ and Suppresses Recombination ». *Nature* 518 (7538): 254–57. <https://doi.org/10.1038/nature14157>.
- Mateos-Gomez, Pedro A., Tatiana Kent, Sarah K Deng, Shane McDevitt, Ekaterina Kashkina, Trung M Hoang, Richard T Pomerantz, et Agnel Sfeir. 2017. « The Helicase Domain of Pol θ Counteracts RPA to Promote Alt-NHEJ ». *Nature Structural & Molecular Biology* 24 (12): 1116–23. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3494>.
- Mathieu, Anne-Laure, Estelle Verronese, Gillian I. Rice, Fanny Fouyssac, Yves Bertrand, Capucine Picard, Marie Chansel, et al. 2015. « PRKDC Mutations Associated with Immunodeficiency, Granuloma, and Autoimmune Regulator–Dependent Autoimmunity ». *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 135 (6): 1578–1588.e5. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.01.040>.
- Matos, Joao, et Stephen C. West. 2014. « Holliday Junction Resolution: Regulation in Space and Time ». *DNA Repair* 19 (juillet): 176–81. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2014.03.013>.
- Mattioli, Elisabetta, Marta Columbaro, Cristina Capanni, Spartaco Santi, Nadir M. Maraldi, M. Rosaria D'Apice, Giuseppe Novelli, et al. 2008. « Drugs Affecting Prelamin A Processing: Effects on Heterochromatin Organization ». *Experimental Cell Research* 314 (3): 453–62. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2007.11.012>.
- Mattiroli, Francesca, Joseph H.A. Vissers, Willem J. van Dijk, Pauline Ikpa, Elisabetta Citterio, Wim Vermeulen, Jurgen A. Marteijn, et Titia K. Sixma. 2012. « RNF168 Ubiquitinates K13-15 on H2A/H2AX to Drive DNA Damage Signaling ». *Cell* 150 (6): 1182–95. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.08.005>.
- McIlwraith, Michael J., Alexandra Vaisman, Yilun Liu, Ellen Fanning, Roger Woodgate, et Stephen C. West. 2005. « Human DNA Polymerase η Promotes DNA Synthesis from Strand Invasion Intermediates of Homologous Recombination ». *Molecular Cell* 20 (5): 783–92. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.10.001>.
- McKerlie, M., S. Lin, et X.-D. Zhu. 2012. « ATM Regulates Proteasome-Dependent Subnuclear Localization of TRF1, Which Is Important for Telomere Maintenance ». *Nucleic Acids Research* 40 (9): 3975–89. <https://doi.org/10.1093/nar/gks035>.
- McKinnon, Peter J., et Keith W. Caldecott. 2007. « DNA Strand Break Repair and Human Genetic Disease ». *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 8 (1): 37–55. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.7.080505.115648>.
- Meier, Karin, et Alexander Brehm. 2014. « Chromatin Regulation: How Complex Does It Get? ». *Epigenetics* 9 (11): 1485–95. <https://doi.org/10.4161/15592294.2014.971580>.
- Methot, S.P., et J.M. Di Noia. 2017. « Molecular Mechanisms of Somatic Hypermutation and Class Switch Recombination ». In *Advances in Immunology*, 133:37–87. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.ai.2016.11.002>.
- MEYNE, JULIANNE, ROBERT L RATLIFF, et ROBERT K MoYzIs. 1989. « Conservation of the Human Telomere Sequence (TTAGGG). among Vertebrates ». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 5.
- Mimitou, Eleni P., et Lorraine S. Symington. 2008. « Sae2, Exo1 and Sgs1 Collaborate in DNA Double-Strand Break Processing ». *Nature* 455 (7214): 770–74. <https://doi.org/10.1038/nature07312>.
- Misteli, Tom, et Evi Soutoglou. 2009. « The Emerging Role of Nuclear Architecture in DNA Repair and Genome Maintenance ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 10 (4): 243–54. <https://doi.org/10.1038/nrm2651>.

- Mitchell, David L., et Rodney S. Nairn. 1989. « THE BIOLOGY OF THE (6–4) PHOTOPRODUCT ». *Photochemistry and Photobiology* 49 (6): 805–19. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1989.tb05578.x>.
- Moan, Johan, Mantas Grigalavicius, Zivile Baturaite, Arne Dahlback, et Asta Juzeniene. 2015. « The Relationship between UV Exposure and Incidence of Skin Cancer: UV Radiation and Skin Cancer ». *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* 31 (1): 26–35. <https://doi.org/10.1111/phpp.12139>.
- Mocellin, Simone, Karen A. Pooley, et Donato Nitti. 2013. « Telomerase and the Search for the End of Cancer ». *Trends in Molecular Medicine* 19 (2): 125–33. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.11.006>.
- Moon, Andrea F, John M Pryor, Dale A Ramsden, Thomas A Kunkel, Katarzyna Bebenek, et Lars C Pedersen. 2014. « Sustained Active Site Rigidity during Synthesis by Human DNA Polymerase μ ». *Nature Structural & Molecular Biology* 21 (3): 253–60. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2766>.
- Moon, Diane H, Matthew Segal, Baris Boyraz, Eva Guinan, Inga Hofmann, Patrick Cahan, Albert K Tai, et Suneet Agarwal. 2015. « Poly(A)-Specific Ribonuclease (PARN) Mediates 3'-End Maturation of the Telomerase RNA Component ». *Nature Genetics* 47 (12): 1482–88. <https://doi.org/10.1038/ng.3423>.
- Morgan, William F., et Marianne B. Sowa. 2015. « Non-Targeted Effects Induced by Ionizing Radiation: Mechanisms and Potential Impact on Radiation Induced Health Effects ». *Cancer Letters* 356 (1): 17–21. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.09.009>.
- Morice-Picard, Fanny, Muriel Cario-André, Hamid Rezvani, Didier Lacombe, Alain Sarasin, et Alain Taïeb. 2009. « New Clinico-Genetic Classification of Trichothiodystrophy ». *American Journal of Medical Genetics Part A* 149A (9): 2020–30. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32902>.
- Mosbech, Anna, Claudia Lukas, Simon Bekker-Jensen, et Niels Mailand. 2013. « The Deubiquitylating Enzyme USP44 Counteracts the DNA Double-Strand Break Response Mediated by the RNF8 and RNF168 Ubiquitin Ligases ». *Journal of Biological Chemistry* 288 (23): 16579–87. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.459917>.
- Moshous, Despina, Isabelle Callebaut, Régina de Chasseval, Barbara Corneo, Marina Cavazzana-Calvo, Françoise Le Deist, Ilhan Tezcan, et al. 2001. « Artemis, a Novel DNA Double-Strand Break Repair/V(D)J Recombination Protein, Is Mutated in Human Severe Combined Immune Deficiency ». *Cell* 105 (2): 177–86. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00309-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00309-9).
- Movérare-Skrtic, Sofia, Per Johansson, Niklas Mattsson, Oskar Hansson, Anders Wallin, Jan-Ove Johansson, Henrik Zetterberg, Kaj Blennow, et Johan Svensson. 2012. « Leukocyte Telomere Length (LTL) Is Reduced in Stable Mild Cognitive Impairment but Low LTL Is Not Associated with Conversion to Alzheimer's Disease: A Pilot Study ». *Experimental Gerontology* 47 (2): 179–82. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2011.12.005>.
- Muramatsu, Masamichi, Kazuo Kinoshita, Sidonia Fagarasan, Shuichi Yamada, Yoichi Shinkai, et Tasuku Honjo. 2000. « Class Switch Recombination and Hypermutation Require Activation-Induced Cytidine Deaminase (AID), a Potential RNA Editing Enzyme ». *Cell* 102 (5): 553–63. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00078-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00078-7).
- Muramatsu, Masamichi, Hitoshi Nagaoka, Reiko Shinkura, Nasim A. Begum, et Tasuku Honjo. 2007. « Discovery of Activation-Induced Cytidine Deaminase, the Engraver of Antibody Memory ». In *Advances in Immunology*, 94:1–36. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(06\)94001-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(06)94001-2).
- Musich, Phillip R., et Yue Zou. 2011. « DNA-Damage Accumulation and Replicative Arrest in Hutchinson–Gilford Progeria Syndrome ». *Biochemical Society Transactions* 39 (6): 1764–69. <https://doi.org/10.1042/BST20110687>.

- Naito, Taku, et Ichiro Taniuchi. 2013. « Roles of Repressive Epigenetic Machinery in Lineage Decision of T Cells ». *Immunology* 139 (2): 151–57. <https://doi.org/10.1111/imm.12058>.
- Nakada, Shinichiro. 2016. « Opposing Roles of RNF8/RNF168 and Deubiquitinating Enzymes in Ubiquitination-Dependent DNA Double-Strand Break Response Signaling and DNA-Repair Pathway Choice ». *Journal of Radiation Research* 57 (S1): i33–40. <https://doi.org/10.1093/jrr/rrw027>.
- Nandakumar, Jayakrishnan, et Thomas R. Cech. 2013. « Finding the End: Recruitment of Telomerase to Telomeres ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 14 (2): 69–82. <https://doi.org/10.1038/nrm3505>.
- Nandakumar, V., Y. Chou, L. Zang, X. F. Huang, et S.-Y. Chen. 2013. « Epigenetic Control of Natural Killer Cell Maturation by Histone H2A Deubiquitinase, MYSM1 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (41): E3927–36. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308888110>.
- Natale, Valerie. 2011. « A Comprehensive Description of the Severity Groups in Cockayne Syndrome ». *American Journal of Medical Genetics Part A* 155 (5): 1081–95. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33933>.
- Neale, Matthew J, Jing Pan, et Scott Keeney. 2006. « Endonucleolytic Processing of Covalent Protein-Linked Double- Strand Breaks », 11.
- Neutelings, Thibaut, Charles A. Lambert, Betty V. Nusgens, et Alain C. Colige. 2013. « Effects of Mild Cold Shock (25°C) Followed by Warming Up at 37°C on the Cellular Stress Response ». Édité par Georg Stoecklin. *PLoS ONE* 8 (7): e69687. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069687>.
- Ng, Laura J., Jennifer E. Cropley, Hilda A. Pickett, Roger R. Reddel, et Catherine M. Suter. 2009. « Telomerase Activity Is Associated with an Increase in DNA Methylation at the Proximal Subtelomere and a Reduction in Telomeric Transcription ». *Nucleic Acids Research* 37 (4): 1152–59. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn1030>.
- Nicassio, Francesco, Nadia Corrado, Joseph H.A. Vissers, Liliana B. Areces, Steven Bergink, Jurgen A. Marteijn, Bart Geverts, et al. 2007a. « Human USP3 Is a Chromatin Modifier Required for S Phase Progression and Genome Stability ». *Current Biology* 17 (22): 1972–77. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.10.034>.
- . 2007b. « Human USP3 Is a Chromatin Modifier Required for S Phase Progression and Genome Stability ». *Current Biology* 17 (22): 1972–77. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.10.034>.
- Nijnik, A., S. Clare, C. Hale, C. Raisen, R. E. McIntyre, K. Yusa, A. R. Everitt, et al. 2012. « The Critical Role of Histone H2A-Deubiquitinase Mysm1 in Hematopoiesis and Lymphocyte Differentiation ». *Blood* 119 (6): 1370–79. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-05-352666>.
- Nimonkar, A. V., J. Genschel, E. Kinoshita, P. Polaczek, J. L. Campbell, C. Wyman, P. Modrich, et S. C. Kowalczykowski. 2011. « BLM-DNA2-RPA-MRN and EXO1-BLM-RPA-MRN Constitute Two DNA End Resection Machineries for Human DNA Break Repair ». *Genes & Development* 25 (4): 350–62. <https://doi.org/10.1101/gad.2003811>.
- Nishi, Ryotaro, Paul Wijnhoven, Carlos le Sage, Jorrit Tjeertes, Yaron Galanty, Josep V. Forment, Michael J. Clague, Sylvie Urbé, et Stephen P. Jackson. 2014. « Systematic Characterization of Deubiquitylating Enzymes for Roles in Maintaining Genome Integrity ». *Nature Cell Biology* 16 (10): 1016–26. <https://doi.org/10.1038/ncb3028>.
- Nishikawa, H., W. Wu, A. Koike, R. Kojima, H. Gomi, M. Fukuda, et T. Ohta. 2009. « BRCA1-Associated Protein 1 Interferes with BRCA1/BARD1 RING Heterodimer Activity ». *Cancer Research* 69 (1): 111–19. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-3355>.
- Noguera, José C., Neil B. Metcalfe, et Pat Monaghan. 2018. « Experimental Demonstration That Offspring Fathered by Old Males Have Shorter Telomeres and Reduced Lifespans ».

- Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 285 (1874): 20180268.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0268>.
- Noordermeer, Sylvie M., Salomé Adam, Dheva Setiaputra, Marco Barazas, Stephen J. Pettitt, Alexandra K. Ling, Michele Olivieri, et al. 2018. « The Shieldin Complex Mediates 53BP1-Dependent DNA Repair ». *Nature*, juillet. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0340-7>.
- Ochi, Takashi, Qian Wu, et Tom L. Blundell. 2014. « The Spatial Organization of Non-Homologous End Joining: From Bridging to End Joining ». *DNA Repair* 17 (mai): 98–109.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2014.02.010>.
- O'Driscoll, Mark, Karen M. Cerosaletti, Pierre-M Girard, Yan Dai, Markus Stumm, Boris Kysela, Betsy Hirsch, et al. 2001. « DNA Ligase IV Mutations Identified in Patients Exhibiting Developmental Delay and Immunodeficiency ». *Molecular Cell* 8 (6): 1175–85.
[https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(01\)00408-7](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(01)00408-7).
- O'Driscoll, Mark, Victor L. Ruiz-Perez, C. Geoffrey Woods, Penny A. Jeggo, et Judith A. Goodship. 2003. « A Splicing Mutation Affecting Expression of Ataxia–Telangiectasia and Rad3–Related Protein (ATR) Results in Seckel Syndrome ». *Nature Genetics* 33 (4): 497–501.
<https://doi.org/10.1038/ng1129>.
- Ogiwara, H, A Ui, A Otsuka, H Satoh, I Yokomi, S Nakajima, A Yasui, J Yokota, et T Kohno. 2011. « Histone Acetylation by CBP and P300 at Double-Strand Break Sites Facilitates SWI/SNF Chromatin Remodeling and the Recruitment of Non-Homologous End Joining Factors ». *Oncogene* 30 (18): 2135–46. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.592>.
- Ohkura, Hiroyuki. 2015. « Meiosis: An Overview of Key Differences from Mitosis ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 (5): a015859. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015859>.
- Ohno, M. 2006. « A Genome-Wide Distribution of 8-Oxoguanine Correlates with the Preferred Regions for Recombination and Single Nucleotide Polymorphism in the Human Genome ». *Genome Research* 16 (5): 567–75. <https://doi.org/10.1101/gr.4769606>.
- Olivieri, Cristina, Anna Mondino, Matteo Chinello, Alessandra Risso, Enrico Finale, Marina Lanciotti, et Andrea Guala. 2017. « Clinical Heterogeneity in a Family with DKC1 Mutation, Dyskeratosis Congenita and Hoyeraal-Hreidarsson Syndrome in First Cousins ». *Pediatric Reports* 9 (3). <https://doi.org/10.4081/pr.2017.7301>.
- Orthwein, Alexandre, Sylvie M. Noordermeer, Marcus D. Wilson, Sébastien Landry, Radoslav I. Enchev, Alana Sherker, Meagan Munro, et al. 2015. « A Mechanism for the Suppression of Homologous Recombination in G1 Cells ». *Nature* 528 (7582): 422–26.
<https://doi.org/10.1038/nature16142>.
- OZER, HARVEY L, SATNAM S BANGA, TANYA DASGUPTA, JEANMARIE HOUGHTON, KAREN HUBBARD, KRISHNA K JHA, SOO-HYUN KIM, et al. s. d. « SV40-MEDIATED IMMORTALIZATION OF HUMAN FIBROBLASTS », 8.
- Ozturk, S., B. Sozen, et N. Demir. 2014. « Telomere Length and Telomerase Activity during Oocyte Maturation and Early Embryo Development in Mammalian Species ». *Molecular Human Reproduction* 20 (1): 15–30. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat055>.
- Palm, Wilhelm, et Titia de Lange. 2008. « How Shelterin Protects Mammalian Telomeres ». *Annual Review of Genetics* 42 (1): 301–34.
<https://doi.org/10.1146/annurev.genet.41.110306.130350>.
- Panda, Swarupa, Jonas A. Nilsson, et Nelson O. Gekara. 2015. « Deubiquitinase MYSM1 Regulates Innate Immunity through Inactivation of TRAF3 and TRAF6 Complexes ». *Immunity* 43 (4): 647–59. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.09.010>.
- Panier, Stephanie, et Daniel Durocher. 2009. « Regulatory Ubiquitylation in Response to DNA Double-Strand Breaks ». *DNA Repair* 8 (4): 436–43.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2009.01.013>.
- Panopoulos, Andreas, Cristina Pacios-Bras, Justin Choi, Mythili Yenjerla, Mark A. Sussman, Rati Fotedar, et Robert L. Margolis. 2014. « Failure of Cell Cleavage Induces Senescence in

- Tetraploid Primary Cells ». Édité par Daniel J. Lew. *Molecular Biology of the Cell* 25 (20): 3105–3118. <https://doi.org/10.1091/mbc.e14-03-0844>.
- Pant, V., A. Quintas-Cardama, et G. Lozano. 2012. « The P53 Pathway in Hematopoiesis: Lessons from Mouse Models, Implications for Humans ». *Blood* 120 (26): 5118–5127. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-05-356014>.
- Park, Ji-Hye, Eun-Jung Park, Shin-Kyoung Hur, Sungsu Kim, et Jongbum Kwon. 2009. « Mammalian SWI/SNF Chromatin Remodeling Complexes Are Required to Prevent Apoptosis after DNA Damage ». *DNA Repair* 8 (1): 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2008.08.011>.
- Parsons, Jason L., Irina I. Dianova, Svetlana V. Khoronenkova, Mariola J. Edelman, Benedikt M. Kessler, et Grigory L. Dianov. 2011. « USP47 Is a Deubiquitylating Enzyme That Regulates Base Excision Repair by Controlling Steady-State Levels of DNA Polymerase β ». *Molecular Cell* 41 (5): 609–615. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.02.016>.
- Patterson-Fortin, Jeffrey, Genze Shao, Heidi Bretscher, Troy E. Messick, et Roger A. Greenberg. 2010. « Differential Regulation of JAMM Domain Deubiquitinating Enzyme Activity within the RAP80 Complex ». *Journal of Biological Chemistry* 285 (40): 30971–30981. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.135319>.
- Paull, Tanya T. 2010. « Making the Best of the Loose Ends: Mre11/Rad50 Complexes and Sae2 Promote DNA Double-Strand Break Resection ». *DNA Repair* 9 (12): 1283–1291. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2010.09.015>.
- . 2015. « Mechanisms of ATM Activation ». *Annual Review of Biochemistry* 84 (1): 711–738. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-034335>.
- Pavanello, S., A.-C. Pesatori, L. Dioni, M. Hoxha, V. Bollati, E. Siwinska, D. Mielzynska, C. Bolognesi, P.-A. Bertazzi, et A. Baccarelli. 2010. « Shorter Telomere Length in Peripheral Blood Lymphocytes of Workers Exposed to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons ». *Carcinogenesis* 31 (2): 216–221. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp278>.
- Pedroso, Ilene M., William Hayward, et Terace M. Fletcher. 2009. « The Effect of the TRF2 N-Terminal and TRFH Regions on Telomeric G-Quadruplex Structures ». *Nucleic Acids Research* 37 (5): 1541–1554. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn1081>.
- Peng, Guang, Eun-Kyoung Yim, Hui Dai, Andrew P. Jackson, Ineke van der Burgt, Mei-Ren Pan, Ruozhen Hu, Kaiyi Li, et Shiao-Yih Lin. 2009. « BRIT1/MCPH1 Links Chromatin Remodelling to DNA Damage Response ». *Nature Cell Biology* 11 (7): 865–872. <https://doi.org/10.1038/ncb1895>.
- Perrone, Serafina, Federica Lotti, Ursula Geronzi, Elisa Guidoni, Mariangela Longini, et Giuseppe Buonocore. 2016. « Oxidative Stress in Cancer-Prone Genetic Diseases in Pediatric Age: The Role of Mitochondrial Dysfunction ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016: 1–7. <https://doi.org/10.1155/2016/4782426>.
- Petersen, Simone, Gabriele Saretzki, et Thomas von Zglinicki. 1998. « Preferential Accumulation of Single-Stranded Regions in Telomeres of Human Fibroblasts ». *Experimental Cell Research* 239 (1): 152–160. <https://doi.org/10.1006/excr.1997.3893>.
- Pezza, R. J., O. N. Voloshin, F. Vanevski, et R. D. Camerini-Otero. 2007. « Hop2/Mnd1 Acts on Two Critical Steps in Dmc1-Promoted Homologous Pairing ». *Genes & Development* 21 (14): 1758–1766. <https://doi.org/10.1101/gad.1562907>.
- Pezza, Roberto J., R. Daniel Camerini-Otero, et Piero R. Bianco. 2010. « Hop2-Mnd1 Condenses DNA to Stimulate the Synapsis Phase of DNA Strand Exchange ». *Biophysical Journal* 99 (11): 3763–3772. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2010.10.028>.
- Pinto, Cosimo, Kristina Kasaciunaite, Ralf Seidel, et Petr Cejka. 2016. « Human DNA2 Possesses a Cryptic DNA Unwinding Activity That Functionally Integrates with BLM or WRN Helicases ». *ELife* 5 (septembre). <https://doi.org/10.7554/eLife.18574>.

- Plevin, Michael J., Morgon M. Mills, et Mitsuhiro Ikura. 2005. « The LxxLL Motif: A Multifunctional Binding Sequence in Transcriptional Regulation ». *Trends in Biochemical Sciences* 30 (2): 66–69. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2004.12.001>.
- Podlevsky, J. D., C. J. Bley, R. V. Omana, X. Qi, et J. J.-L. Chen. 2007. « The Telomerase Database ». *Nucleic Acids Research* 36 (Database): D339–43. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm700>.
- Polo, S. E., et S. P. Jackson. 2011. « Dynamics of DNA Damage Response Proteins at DNA Breaks: A Focus on Protein Modifications ». *Genes & Development* 25 (5): 409–33. <https://doi.org/10.1101/gad.2021311>.
- Polo, Sophie E, Abderrahmane Kaidi, Linda Baskcomb, Yaron Galanty, et Stephen P Jackson. 2010. « Regulation of DNA-Damage Responses and Cell-Cycle Progression by the Chromatin Remodelling Factor CHD4 ». *The EMBO Journal* 29 (18): 3130–39. <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.188>.
- Polvi, Anne, Tarja Linnankivi, Tero Kivelä, Riitta Herva, James P. Keating, Outi Mäkitie, Davide Pareyson, et al. 2012. « Mutations in CTC1 , Encoding the CTS Telomere Maintenance Complex Component 1, Cause Cerebroretinal Microangiopathy with Calcifications and Cysts ». *The American Journal of Human Genetics* 90 (3): 540–49. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.02.002>.
- Pontel, Lucas B., Ivan V. Rosado, Guillermo Burgos-Barragan, Juan I. Garaycochea, Rui Yu, Mark J. Arends, Gayathri Chandrasekaran, et al. 2015. « Endogenous Formaldehyde Is a Hematopoietic Stem Cell Genotoxin and Metabolic Carcinogen ». *Molecular Cell* 60 (1): 177–88. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.08.020>.
- Porro, Antonio, Sascha Feuerhahn, Julien Delafontaine, Harold Riethman, Jacques Rougemont, et Joachim Lingner. 2014. « Functional Characterization of the TERRA Transcriptome at Damaged Telomeres ». *Nature Communications* 5 (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms6379>.
- Potenski, Catherine J., et Hannah L. Klein. 2014. « How the Misincorporation of Ribonucleotides into Genomic DNA Can Be Both Harmful and Helpful to Cells ». *Nucleic Acids Research* 42 (16): 10226–34. <https://doi.org/10.1093/nar/gku773>.
- Pourquier, Philippe, et Yves Pommier. 2001. « Topoisomerase I-Mediated DNA Damage ». In *Advances in Cancer Research*, 80:189–216. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-230X\(01\)80016-6](https://doi.org/10.1016/S0065-230X(01)80016-6).
- Prasad, Kedar N., Meixia Wu, et Stephen C. Bondy. 2017. « Telomere Shortening during Aging: Attenuation by Antioxidants and Anti-Inflammatory Agents ». *Mechanisms of Ageing and Development* 164 (juin): 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.04.004>.
- Price, Alexander M., et Micah A. Luftig. 2014. « Dynamic Epstein–Barr Virus Gene Expression on the Path to B-Cell Transformation ». In *Advances in Virus Research*, 88:279–313. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800098-4.00006-4>.
- Pryor, John M., Crystal A. Waters, Ana Aza, Kenjiro Asagoshi, Christina Strom, Piotr A. Mieczkowski, Luis Blanco, et Dale A. Ramsden. 2015. « Essential Role for Polymerase Specialization in Cellular Nonhomologous End Joining ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (33): E4537–45. <https://doi.org/10.1073/pnas.1505805112>.
- Puri, N., S. Ahmed, V. Janamanchi, M. Tretiakova, O. Zumba, T. Krausz, R. Jagadeeswaran, et R. Salgia. 2007. « C-Met Is a Potentially New Therapeutic Target for Treatment of Human Melanoma ». *Clinical Cancer Research* 13 (7): 2246–53. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-0776>.
- Puyo, Stéphane, Danièle Montaudon, et Philippe Pourquier. 2014. « From Old Alkylating Agents to New Minor Groove Binders ». *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 89 (1): 43–61. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.07.006>.

- Qi, W., R. Wang, H. Chen, X. Wang, T. Xiao, I. Boldogh, X. Ba, L. Han, et X. Zeng. 2015. « BRG1 Promotes the Repair of DNA Double-Strand Breaks by Facilitating the Replacement of RPA with RAD51 ». *Journal of Cell Science* 128 (2): 317–330. <https://doi.org/10.1242/jcs.159103>.
- Qian, Chengmin, Qiang Zhang, SiDe Li, Lei Zeng, Martin J Walsh, et Ming-Ming Zhou. 2005. « Structure and Chromosomal DNA Binding of the SWIRM Domain ». *Nature Structural & Molecular Biology* 12 (12): 1078–1085. <https://doi.org/10.1038/nsmb1022>.
- Qiao, Huanyu, Jefferson K. Chen, April Reynolds, Christer Höög, Michael Paddy, et Neil Hunter. 2012. « Interplay between Synaptonemal Complex, Homologous Recombination, and Centromeres during Mammalian Meiosis ». Édité par R. Scott Hawley. *PLoS Genetics* 8 (6): e1002790. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002790>.
- Qvist, Per, Pablo Huertas, Sonia Jimeno, Mette Nyegaard, Muhammad J. Hassan, Stephen P. Jackson, et Anders D. Børglum. 2011. « CtIP Mutations Cause Seckel and Jawad Syndromes ». Édité par Veronica van Heyningen. *PLoS Genetics* 7 (10): e1002310. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002310>.
- Raab, Jesse R., John S. Runge, Camarie C. Spear, et Terry Magnuson. 2017. « Co-Regulation of Transcription by BRG1 and BRM, Two Mutually Exclusive SWI/SNF ATPase Subunits ». *Epigenetics & Chromatin* 10 (1). <https://doi.org/10.1186/s13072-017-0167-8>.
- Rackley, Sandra, Maryland Pao, Guillermo F. Seratti, Neelam Giri, J.J. Rasimas, Blanche P. Alter, et Sharon A. Savage. 2012. « Neuropsychiatric Conditions Among Patients with Dyskeratosis Congenita: A Link with Telomere Biology? » *Psychosomatics* 53 (3): 230–235. <https://doi.org/10.1016/j.psych.2011.09.003>.
- Rai, Rekha, Yong Chen, Ming Lei, et Sandy Chang. 2016. « TRF2-RAP1 Is Required to Protect Telomeres from Engaging in Homologous Recombination-Mediated Deletions and Fusions ». *Nature Communications* 7 (mars): 10881. <https://doi.org/10.1038/ncomms10881>.
- Rai, Rekha, Hong Zheng, Hua He, Ying Luo, Asha Multani, Phillip B Carpenter, et Sandy Chang. 2010. « The Function of Classical and Alternative Non-Homologous End-Joining Pathways in the Fusion of Dysfunctional Telomeres ». *The EMBO Journal* 29 (15): 2598–2610. <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.142>.
- Ran, F Ann, Patrick D Hsu, Jason Wright, Vineeta Agarwala, David A Scott, et Feng Zhang. 2013. « Genome Engineering Using the CRISPR-Cas9 System ». *Nature Protocols* 8 (11): 2281–2308. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.143>.
- Ranjha, Lepakshi, Sean M. Howard, et Petr Cejka. 2018. « Main Steps in DNA Double-Strand Break Repair: An Introduction to Homologous Recombination and Related Processes ». *Chromosoma* 127 (2): 187–214. <https://doi.org/10.1007/s00412-017-0658-1>.
- Ratnasamy, Vithiya, Suganthan Navaneethakrishnan, Nirmala Dushyanthi Sirisena, Nana-Maria Grüning, Oliver Brandau, Kumanan Thirunavukarasu, Casey L. Dagnall, Lisa J. McReynolds, Sharon A. Savage, et Vajira H. W. Dissanayake. 2018. « Dyskeratosis Congenita with a Novel Genetic Variant in the DKC1 Gene: A Case Report ». *BMC Medical Genetics* 19 (1). <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0584-y>.
- Ray, Paul D., Bo-Wen Huang, et Yoshiaki Tsuji. 2012. « Reactive Oxygen Species (ROS) Homeostasis and Redox Regulation in Cellular Signaling ». *Cellular Signalling* 24 (5): 981–990. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.01.008>.
- Redon, Sophie, Patrick Reichenbach, et Joachim Lingner. 2010. « The Non-Coding RNA TERRA Is a Natural Ligand and Direct Inhibitor of Human Telomerase ». *Nucleic Acids Research* 38 (17): 5797–5806. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq296>.
- Reisman, D, S Glaros, et E A Thompson. 2009. « The SWI/SNF Complex and Cancer ». *Oncogene* 28 (14): 1653–1668. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.4>.
- Renkawitz, Jörg, Claudio A. Lademann, et Stefan Jentsch. 2014. « Mechanisms and Principles of Homology Search during Recombination ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 15 (6): 369–383. <https://doi.org/10.1038/nrm3805>.

- Reuter, Simone, Subash C. Gupta, Madan M. Chaturvedi, et Bharat B. Aggarwal. 2010. « Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer: How Are They Linked? » *Free Radical Biology and Medicine* 49 (11): 1603–16. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>.
- Revy, Patrick, Taro Muto, Yves Levy, Frédéric Geissmann, Alessandro Plebani, Ozden Sanal, Nadia Catalan, et al. 2000. « Activation-Induced Cytidine Deaminase (AID) Deficiency Causes the Autosomal Recessive Form of the Hyper-IgM Syndrome (HIGM2) ». *Cell* 102 (5): 565–75. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00079-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00079-9).
- Rezazadeh, Sarallah. 2013. « On BLM Helicase in Recombination-Mediated Telomere Maintenance ». *Molecular Biology Reports* 40 (4): 3049–64. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2379-0>.
- Ricci, Maria Aurelia, Carlo Manzo, María Filomena García-Parajo, Melike Lakadamyali, et Maria Pia Cosma. 2015. « Chromatin Fibers Are Formed by Heterogeneous Groups of Nucleosomes In Vivo ». *Cell* 160 (6): 1145–58. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.054>.
- Risitano, A. M., S. Marotta, R. Calzone, F. Grimaldi, A. Zatterale, et on behalf of all RIAF Contributors. 2016. « Twenty Years of the Italian Fanconi Anemia Registry: Where We Stand and What Remains to Be Learned ». *Haematologica* 101 (3): 319–27. <https://doi.org/10.3324/haematol.2015.133520>.
- Rivera-Munoz, Paola, Laurent Malivert, Sonia Derdouch, Chantal Azerrad, Vincent Abramowski, Patrick Revy, et Jean-Pierre de Villartay. 2007. « DNA Repair and the Immune System: From V(D)J Recombination to Aging Lymphocytes ». *European Journal of Immunology* 37 (S1): S71–82. <https://doi.org/10.1002/eji.200737396>.
- Rizzo, Angela, Erica Salvati, Manuela Porru, Carmen D'Angelo, Malcolm F. Stevens, Maurizio D'Incalci, Carlo Leonetti, Eric Gilson, Gabriella Zupi, et Annamaria Biroccio. 2009. « Stabilization of Quadruplex DNA Perturbs Telomere Replication Leading to the Activation of an ATR-Dependent ATM Signaling Pathway ». *Nucleic Acids Research* 37 (16): 5353–64. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp582>.
- Roake, Caitlin M., et Steven E. Artandi. 2017. « Control of Cellular Aging, Tissue Function, and Cancer by P53 Downstream of Telomeres ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 7 (5): a026088. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026088>.
- Robert, Thomas, Nathalie Vrielynck, Christine Mézard, Bernard de Massy, et Mathilde Grelon. 2016. « A New Light on the Meiotic DSB Catalytic Complex ». *Seminars in Cell & Developmental Biology* 54 (juin): 165–76. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.02.025>.
- Robin, Jérôme D., et Frédérique Magdinier. 2016. « Physiological and Pathological Aging Affects Chromatin Dynamics, Structure and Function at the Nuclear Edge ». *Frontiers in Genetics* 7 (août). <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00153>.
- Rodier, F., D. P. Munoz, R. Teachenor, V. Chu, O. Le, D. Bhaumik, J.-P. Coppe, et al. 2011. « DNA-SCARS: Distinct Nuclear Structures That Sustain Damage-Induced Senescence Growth Arrest and Inflammatory Cytokine Secretion ». *Journal of Cell Science* 124 (1): 68–81. <https://doi.org/10.1242/jcs.071340>.
- Roth, David B. 2014. « V(D)J Recombination: Mechanism, Errors, and Fidelity ». *Microbiology Spectrum* 2 (6). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0041-2014>.
- Rothbart, Scott B., et Brian D. Strahl. 2014. « Interpreting the Language of Histone and DNA Modifications ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms* 1839 (8): 627–43. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.03.001>.
- Roux, Kyle J., Dae In Kim, et Brian Burke. 2013. « BioID: A Screen for Protein-Protein Interactions: BioID Screen for Protein Interactions ». In *Current Protocols in Protein Science*, édité par John E. Coligan, Ben M. Dunn, David W. Speicher, et Paul T. Wingfield, 19.23.1–19.23.14. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471140864.ps1923s74>.

- Ruan, Kun, Takaharu G. Yamamoto, Haruhiko Asakawa, Yuji Chikashige, Hiroshi Kimura, Hisao Masukata, Tokuko Haraguchi, et Yasushi Hiraoka. 2015. « Histone H4 Acetylation Required for Chromatin Decompaction during DNA Replication ». *Scientific Reports* 5 (1). <https://doi.org/10.1038/srep12720>.
- Ruden, Maria, et Neelu Puri. 2013. « Novel Anticancer Therapeutics Targeting Telomerase ». *Cancer Treatment Reviews* 39 (5): 444–56. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2012.06.007>.
- Ryu, Taehyun, Brett Spatola, Laetitia Delabaere, Katherine Bowlin, Hannah Hopp, Ryan Kunitake, Gary H. Karpen, et Irene Chiolo. 2015. « Heterochromatic Breaks Move to the Nuclear Periphery to Continue Recombinational Repair ». *Nature Cell Biology* 17 (11): 1401–11. <https://doi.org/10.1038/ncb3258>.
- Sachadyn, Paweł. 2010. « Conservation and Diversity of MutS Proteins ». *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 694 (1–2): 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.08.009>.
- Sagie, Shira, Erika Ellran, Hagar Katzir, Rony Shaked, Shiran Yehezkel, Ilana Laevsky, Alaa Ghanayim, Dan Geiger, Maty Tzukerman, et Sara Selig. 2014. « Induced Pluripotent Stem Cells as a Model for Telomeric Abnormalities in ICF Type I Syndrome ». *Human Molecular Genetics* 23 (14): 3629–40. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu071>.
- Saint-Léger, Adélaïde, Melanie Koelblen, Livia Civitelli, Amadou Bah, Nadir Djerbi, Marie-Josèphe Giraud-Panis, Arturo Londoño-Vallejo, Fiorentina Ascenzioni, et Eric Gilson. 2014. « The Basic N-Terminal Domain of TRF2 Limits Recombination Endonuclease Action at Human Telomeres ». *Cell Cycle* 13 (15): 2469–74. <https://doi.org/10.4161/cc.29422>.
- Sakofsky, Cynthia J., et Anna Malkova. 2017. « Break Induced Replication in Eukaryotes: Mechanisms, Functions, and Consequences ». *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 52 (4): 395–413. <https://doi.org/10.1080/10409238.2017.1314444>.
- Samanta, Saheli, et Parimal Karmakar. 2012. « Recruitment of HRDC Domain of WRN and BLM to the Sites of DNA Damage Induced by Mitomycin C and Methyl Methanesulfonate ». *Cell Biology International* 36 (10): 873–81. <https://doi.org/10.1042/CBI20110510>.
- Sanchez-Roman, Ines, Sofie Lautrup, Maria Diget Aamann, Edward G. Neilan, John R. Østergaard, et Tinna Stevnsner. 2018. « Two Cockayne Syndrome Patients with a Novel Splice Site Mutation – Clinical and Metabolic Analyses ». *Mechanisms of Ageing and Development* 175 (octobre): 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2018.06.001>.
- Sarek, Grzegorz, Jean-Baptiste Vannier, Stephanie Panier, John H.J. Petrini, et Simon J. Boulton. 2015. « TRF2 Recruits RTEL1 to Telomeres in S Phase to Promote T-Loop Unwinding ». *Molecular Cell* 57 (4): 622–35. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.12.024>.
- Sarthy, Jay, Nancy S Bae, Jonathan Scrafford, et Peter Baumann. 2009. « Human RAP1 Inhibits Non-Homologous End Joining at Telomeres ». *The EMBO Journal* 28 (21): 3390–99. <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.275>.
- Sasa, Gs, A Ribes-Zamora, Nd Nelson, et Aa Bertuch. 2012. « Three Novel Truncating TINF2 Mutations Causing Severe Dyskeratosis Congenita in Early Childhood ». *Clinical Genetics* 81 (5): 470–78. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2011.01658.x>.
- Savage, Kienan I., et D. Paul Harkin. 2015. « BRCA1, a ‘Complex’ Protein Involved in the Maintenance of Genomic Stability ». *The FEBS Journal* 282 (4): 630–46. <https://doi.org/10.1111/febs.13150>.
- Savage, Sharon A. 2012. « Connecting Complex Disorders through Biology ». *Nature Genetics* 44 (3): 238–40. <https://doi.org/10.1038/ng.2206>.
- Savage, Sharon A. 2014. « Human Telomeres and Telomere Biology Disorders ». In *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 125:41–66. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397898-1.00002-5>.
- Savage, Sharon A., Neelam Giri, Gabriela M. Baerlocher, Nick Orr, Peter M. Lansdorp, et Blanche P. Alter. 2008. « TINF2, a Component of the Shelterin Telomere Protection Complex, Is

- Mutated in Dyskeratosis Congenita ». *The American Journal of Human Genetics* 82 (2): 501–509. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.10.004>.
- Savkur, R.S., et T.P. Burris. 2004. « The Coactivator LXXLL Nuclear Receptor Recognition Motif ». *Journal of Peptide Research* 63 (3): 207–212. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.2004.00126.x>.
- Schatz, David G., et Patrick C. Swanson. 2011. « V(D)J Recombination: Mechanisms of Initiation ». *Annual Review of Genetics* 45 (1): 167–202. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132552>.
- Scheuermann, Johanna C., Andrés Gaytán de Ayala Alonso, Katarzyna Oktaba, Nga Ly-Hartig, Robert K. McGinty, Sven Fraterman, Matthias Wilm, Tom W. Muir, et Jürg Müller. 2010. « Histone H2A Deubiquitinase Activity of the Polycomb Repressive Complex PR-DUB ». *Nature* 465 (7295): 243–247. <https://doi.org/10.1038/nature08966>.
- Schoeftner, Stefan, et Maria A. Blasco. 2008. « Developmentally Regulated Transcription of Mammalian Telomeres by DNA-Dependent RNA Polymerase II ». *Nature Cell Biology* 10 (2): 228–236. <https://doi.org/10.1038/ncb1685>.
- Scholl, Florence A, Jivko Kamarashev, Omar V Murmann, Ralf Geertsen, Reinhard Dummer, et Beat W Schafer. s. d. « PAX3 Is Expressed in Human Melanomas and Contributes to Tumor Cell Survival », 5.
- Schrader, C. E., J. E. J. Guikema, E. K. Linehan, E. Selsing, et J. Stavnezer. 2007. « Activation-Induced Cytidine Deaminase-Dependent DNA Breaks in Class Switch Recombination Occur during G1 Phase of the Cell Cycle and Depend upon Mismatch Repair ». *The Journal of Immunology* 179 (9): 6064–6071. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.9.6064>.
- Schrader, Carol E., Erin K. Linehan, Sofia N. Mochevova, Robert T. Woodland, et Janet Stavnezer. 2005. « Inducible DNA Breaks in Ig S Regions Are Dependent on AID and UNG ». *The Journal of Experimental Medicine* 202 (4): 561–568. <https://doi.org/10.1084/jem.20050872>.
- Schuster-Böckler, Benjamin, et Ben Lehner. 2012. « Chromatin Organization Is a Major Influence on Regional Mutation Rates in Human Cancer Cells ». *Nature* 488 (7412): 504–507. <https://doi.org/10.1038/nature11273>.
- Schwartz, Yuri B., et Vincenzo Pirrotta. 2014. « Ruled by Ubiquitylation: A New Order for Polycomb Recruitment ». *Cell Reports* 8 (2): 321–325. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.07.001>.
- Seeber, Andrew, Michael Hauer, et Susan M Gasser. 2013. « Nucleosome Remodelers in Double-Strand Break Repair ». *Current Opinion in Genetics & Development* 23 (2): 174–184. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.12.008>.
- Seeman, Pavel, Kateřina Gebertová, Kateřina Paděřová, Karl Sperling, et Eva Seemanová. 2004. « Nijmegen Breakage Syndrome in 13% of Age-Matched Czech Children with Primary Microcephaly ». *Pediatric Neurology* 30 (3): 195–200. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2003.07.003>.
- Segal, Anthony W. 2005. « HOW NEUTROPHILS KILL MICROBES ». *Annual Review of Immunology* 23 (1): 197–223. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115653>.
- Seol, Ja-Hwan, Eun Yong Shim, et Sang Eun Lee. 2018. « Microhomology-Mediated End Joining: Good, Bad and Ugly ». *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 809 (mai): 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2017.07.002>.
- Sfeir, A., et T. de Lange. 2012. « Removal of Shelterin Reveals the Telomere End-Protection Problem ». *Science* 336 (6081): 593–597. <https://doi.org/10.1126/science.1218498>.
- Sfeir, Agnel, Settapong T. Kosiyatrakul, Dirk Hockemeyer, Sheila L. MacRae, Jan Karlseder, Carl L. Schildkraut, et Titia de Lange. 2009. « Mammalian Telomeres Resemble Fragile Sites and Require TRF1 for Efficient Replication ». *Cell* 138 (1): 90–103. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.06.021>.

- Shanbhag, Niraj M., Ilona U. Rafalska-Metcalf, Carlo Balane-Bolivar, Susan M. Janicki, et Roger A. Greenberg. 2010. « ATM-Dependent Chromatin Changes Silence Transcription In Cis to DNA Double-Strand Breaks ». *Cell* 141 (6): 970–81. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.04.038>.
- Sharma, Nidhi, Qianzheng Zhu, Gulzar Wani, Jingshan He, Qi-En Wang, et Altaf A Wani. 2014. « USP3 Counteracts RNF168 via Deubiquitinating H2A and ̳H2AX at Lysine 13 and 15 ». *Cell Cycle* 13 (1): 106–14. <https://doi.org/10.4161/cc.26814>.
- Shay, Jerry W, et Woodring E Wright. 2002. « Telomerase: A Target for Cancer Therapeutics ». *Cancer Cell* 2 (4): 257–65. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(02\)00159-9](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(02)00159-9).
- Shay, Jerry W., Woodring E. Wright, et Harold Werbin. 1991. « Defining the Molecular Mechanisms of Human Cell Immortalization ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1072 (1): 1–7. [https://doi.org/10.1016/0304-419X\(91\)90003-4](https://doi.org/10.1016/0304-419X(91)90003-4).
- Shay, J.W., et S. Bacchetti. 1997. « A Survey of Telomerase Activity in Human Cancer ». *European Journal of Cancer* 33 (5): 787–91. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(97\)00062-2](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(97)00062-2).
- Shibata, Atsushi, Davide Moiani, Andrew S. Arvai, Jefferson Perry, Shane M. Harding, Marie-Michelle Genois, Ranjan Maity, et al. 2014. « DNA Double-Strand Break Repair Pathway Choice Is Directed by Distinct MRE11 Nuclease Activities ». *Molecular Cell* 53 (1): 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.11.003>.
- Shibuya, Hiromi, Aiko Kato, Nobutaka Kai, Sakuhei Fujiwara, et Makoto Goto. 2005. « A Case of Werner Syndrome with Three Primary Lesions of Malignant Melanoma ». *The Journal of Dermatology* 32 (9): 737–44. <https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2005.tb00835.x>.
- Shimizu, Ippei, Yohko Yoshida, Masayoshi Suda, et Tohru Minamino. 2014. « DNA Damage Response and Metabolic Disease ». *Cell Metabolism* 20 (6): 967–77. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.10.008>.
- Simm, Andreas, et Judith Campisi. 2014. « Stress and Aging ». *Experimental Gerontology* 59 (novembre): 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.11.015>.
- Simsek, Deniz, Erika Brunet, Sunnie Yan-Wai Wong, Sachin Katyal, Yankun Gao, Peter J. McKinnon, Jacqueline Lou, et al. 2011. « DNA Ligase III Promotes Alternative Nonhomologous End-Joining during Chromosomal Translocation Formation ». Édité par James E. Haber. *PLoS Genetics* 7 (6): e1002080. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002080>.
- Singh, Dharmendra Kumar, Avik K. Ghosh, Deborah L. Croteau, et Vilhelm A. Bohr. 2012. « RecQ Helicases in DNA Double Strand Break Repair and Telomere Maintenance ». *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 736 (1–2): 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.06.002>.
- Singh, Mayank, Clayton R. Hunt, Raj K. Pandita, Rakesh Kumar, Chin-Rang Yang, Nobuo Horikoshi, Robert Bachoo, et al. 2013. « Lamin A/C Depletion Enhances DNA Damage-Induced Stalled Replication Fork Arrest ». *Molecular and Cellular Biology* 33 (6): 1210–22. <https://doi.org/10.1128/MCB.01676-12>.
- Skipper, P. L., M. Y. Kim, H.-L. P. Sun, G. N. Wogan, et S. R. Tannenbaum. 2010. « Monocyclic Aromatic Amines as Potential Human Carcinogens: Old Is New Again ». *Carcinogenesis* 31 (1): 50–58. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp267>.
- Smith, Joanne, Lye Mun Tho, Naihan Xu, et David A. Gillespie. 2010. « The ATM–Chk2 and ATR–Chk1 Pathways in DNA Damage Signaling and Cancer ». In *Advances in Cancer Research*, 108:73–112. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380888-2.00003-0>.
- Smith-Roe, Stephanie L., Jun Nakamura, Darcy Holley, Paul D. Chastain, Gary B. Rosson, Dennis A. Simpson, John R. Ridpath, David G. Kaufman, William K. Kaufmann, et Scott J. Bultman. 2015. « SWI/SNF Complexes Are Required for Full Activation of the DNA-Damage Response ». *Oncotarget* 6 (2). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2715>.

- Smogorzewska, A., B. van Steensel, A. Bianchi, S. Oelmann, M. R. Schaefer, G. Schnapp, et T. de Lange. 2000. « Control of Human Telomere Length by TRF1 and TRF2 ». *Molecular and Cellular Biology* 20 (5): 1659–1668. <https://doi.org/10.1128/MCB.20.5.1659-1668.2000>.
- Smogorzewska, Agata, Shuhei Matsuoka, Patrizia Vinciguerra, et E Robert McDonald. 2008. « Identification of the Fanconi Anemia (FANC) I Protein, a Monoubiquitinated FANCD2 Paralog Required for Crosslink Repair », 23.
- Sobhian, B., G. Shao, D. R. Lilli, A. C. Culhane, L. A. Moreau, B. Xia, D. M. Livingston, et R. A. Greenberg. 2007. « RAP80 Targets BRCA1 to Specific Ubiquitin Structures at DNA Damage Sites ». *Science* 316 (5828): 1198–1202. <https://doi.org/10.1126/science.1139516>.
- Sobinoff, Alexander P., et Hilda A. Pickett. 2017. « Alternative Lengthening of Telomeres: DNA Repair Pathways Converge ». *Trends in Genetics* 33 (12): 921–932. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.09.003>.
- Sohn, Dong H., Kyoo Y. Lee, Changjin Lee, Jaehak Oh, Heekyoung Chung, Sung H. Jeon, et Rho H. Seong. 2007. « SRG3 Interacts Directly with the Major Components of the SWI/SNF Chromatin Remodeling Complex and Protects Them from Proteasomal Degradation ». *Journal of Biological Chemistry* 282 (14): 10614–10624. <https://doi.org/10.1074/jbc.M610563200>.
- Soria, Gaston, Sophie E. Polo, et Geneviève Almouzni. 2012. « Prime, Repair, Restore: The Active Role of Chromatin in the DNA Damage Response ». *Molecular Cell* 46 (6): 722–734. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.06.002>.
- Stadler, Guido, Fedik Rahimov, Oliver D King, Jennifer C J Chen, Jerome D Robin, Kathryn R Wagner, Jerry W Shay, Charles P Emerson, et Woodring E Wright. 2013. « Telomere Position Effect Regulates DUX4 in Human Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy ». *Nature Structural & Molecular Biology* 20 (6): 671–678. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2571>.
- Stanley, Susan E., Dustin L. Gable, Christa L. Wagner, Thomas M. Carlile, Vidya Sagar Hanumanthu, Joshua D. Podlevsky, Sara E. Khalil, et al. 2016. « Loss-of-Function Mutations in the RNA Biogenesis Factor *NAF1* Predispose to Pulmonary Fibrosis–Emphysema ». *Science Translational Medicine* 8 (351): 351ra107–351ra107. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf7837>.
- Stefanini, M., E. Botta, M. Lanzafame, et D. Orioli. 2010. « Trichothiodystrophy: From Basic Mechanisms to Clinical Implications ». *DNA Repair* 9 (1): 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2009.10.005>.
- Steffen, Jan, Raymonda Varon, Maria Mosor, Galina Maneva, Martin Maurer, Markus Stumm, Dorota Nowakowska, et al. 2004. « Increased Cancer Risk of Heterozygotes With NBS1 Germline Mutations in Poland ». *International Journal of Cancer* 111 (1): 67–71. <https://doi.org/10.1002/ijc.20239>.
- Stewart, Grant S, Richard S Maser, Tanja Stankovic, Debra A Bressan, Mark I Kaplan, Nikolaas G.J Jaspers, Anja Raams, Philip J Byrd, John H.J Petrini, et A.Malcolm R Taylor. 1999. « The DNA Double-Strand Break Repair Gene HMRE11 Is Mutated in Individuals with an Ataxia-Telangiectasia-like Disorder ». *Cell* 99 (6): 577–587. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81547-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81547-0).
- Storr, S J, C M Woolston, et S G Martin. s. d. « Base Excision Repair, the Redox Environment and Therapeutic Implications ». *Base Excision Repair*, 14.
- Stuart, Bridget D, Jungmin Choi, Samir Zaidi, Chao Xing, Brody Holohan, Rui Chen, Mihwa Choi, et al. 2015. « Exome Sequencing Links Mutations in PARN and RTEL1 with Familial Pulmonary Fibrosis and Telomere Shortening ». *Nature Genetics* 47 (5): 512–517. <https://doi.org/10.1038/ng.3278>.
- Subramanyam, Shyamal, Colin D. Kinz-Thompson, Ruben L. Gonzalez, et Maria Spies. 2018. « Observation and Analysis of RAD51 Nucleation Dynamics at Single-Monomer

- Resolution ». In *Methods in Enzymology*, 600:201–32. Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/bs.mie.2017.12.008>.
- Supek, Fran, et Ben Lehner. 2015. « Differential DNA Mismatch Repair Underlies Mutation Rate Variation across the Human Genome ». *Nature* 521 (7550): 81–84.
<https://doi.org/10.1038/nature14173>.
- Swift, M., et J. L. Lukin. 2008. « Breast Cancer Incidence and the Effect of Cigarette Smoking in Heterozygous Carriers of Mutations in the Ataxia-Telangiectasia Gene ». *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 17 (11): 3188–92. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0414>.
- Sy, S. M. H., J. Jiang, W. S. O, Y. Deng, et M. S. Y. Huen. 2013. « The Ubiquitin Specific Protease USP34 Promotes Ubiquitin Signaling at DNA Double-Strand Breaks ». *Nucleic Acids Research* 41 (18): 8572–80. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt622>.
- Taalman, R.D.F.M., N.G.J. Jaspers, J.M.J.C. Scheres, J. de Wit, et T.W.J. Hustinx. 1983. « Hypersensitivity to Ionizing Radiation, in Vitro, in a New Chromosomal Breakage Disorder, the Nijmegen Breakage Syndrome ». *Mutation Research/DNA Repair Reports* 112 (1): 23–32. [https://doi.org/10.1016/0167-8817\(83\)90021-4](https://doi.org/10.1016/0167-8817(83)90021-4).
- Takai, Hiroyuki, Emma Jenkinson, Shaheen Kabir, Riyana Babul-Hirji, Nasrin Najm-Tehrani, David A. Chitayat, Yanick J. Crow, et Titia de Lange. 2016. « A POT1 Mutation Implicates Defective Telomere End Fill-in and Telomere Truncations in Coats Plus ». *Genes & Development* 30 (7): 812–26. <https://doi.org/10.1101/gad.276873.115>.
- Takai, Hiroyuki, Agata Smogorzewska, et Titia de Lange. 2003. « DNA Damage Foci at Dysfunctional Telomeres ». *Current Biology* 13 (17): 1549–56.
[https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(03\)00542-6](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(03)00542-6).
- Takai, Kaori K., Tatsuya Kibe, Jill R. Donigian, David Frescas, et Titia de Lange. 2011. « Telomere Protection by TPP1/POT1 Requires Tethering to TIN2 ». *Molecular Cell* 44 (4): 647–59.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.08.043>.
- Takeda, Shunichi, Kyoko Nakamura, Yoshihito Taniguchi, et Tanya T. Paull. 2007. « Ctp1/CtIP and the MRN Complex Collaborate in the Initial Steps of Homologous Recombination ». *Molecular Cell* 28 (3): 351–52. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.10.016>.
- Tamaro, Margaret, Shuren Liao, Jill McCane, et Hong Yan. 2015. « The N-Terminus of RPA Large Subunit and Its Spatial Position Are Important for the 5'->3' Resection of DNA Double-Strand Breaks ». *Nucleic Acids Research* 43 (18): 8790–8800.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv764>.
- Tang, Jiangbo, Nam Woo Cho, Gaofeng Cui, Erica M Manion, Niraj M Shanbhag, Maria Victoria Botuyan, Georges Mer, et Roger A Greenberg. 2013. « Acetylation Limits 53BP1 Association with Damaged Chromatin to Promote Homologous Recombination ». *Nature Structural & Molecular Biology* 20 (3): 317–25. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2499>.
- Tarsounas, Madalena, et Marcel Tijsterman. 2013. « Genomes and G-Quadruplexes: For Better or for Worse ». *Journal of Molecular Biology* 425 (23): 4782–89.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.09.026>.
- Taylor, Martin R.G., Mário Špírek, Kathy R. Chaurasiya, Jordan D. Ward, Raffaella Carzaniga, Xiong Yu, Edward H. Egelman, et al. 2015. « Rad51 Paralogs Remodel Pre-Synaptic Rad51 Filaments to Stimulate Homologous Recombination ». *Cell* 162 (2): 271–86.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.06.015>.
- Technau, Antje, Armin Wolff, Christian Sauder, Nico Birkner, et Gerhard Brandner. 2001. « P53 in SV40-Transformed DNA-Damaged Human Cells Binds to Its Cognate Sequence but Fails to Transactivate Target Genes ». *International Journal of Oncology*, février.
<https://doi.org/10.3892/ijo.18.2.281>.
- « The MDM2-P53 Pathway Revisited ». 2013. *Journal of Biomedical Research*, juillet.
<https://doi.org/10.7555/JBR.27.20130030>.

- Theall, Katherine P., Sarah McKasson, Emily Mabile, Lauren F. Dunaway, et Stacy S. Drury. 2013. « Early Hits and Long-Term Consequences: Tracking the Lasting Impact of Prenatal Smoke Exposure on Telomere Length in Children ». *American Journal of Public Health* 103 (S1): S133–S135. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2012.301208>.
- Thweatt, Ray, et Samuel Goldstein. 1993. « Hypothesis: Werner Syndrome and Biological Ageing: A Molecular Genetic Hypothesis ». *BioEssays* 15 (6): 421–426. <https://doi.org/10.1002/bies.950150609>.
- Tichý, Aleš, Jiřina Vávrová, Jaroslav Pejchal, et Martina Řezáčová. 2010. « Ataxia-Telangiectasia Mutated Kinase (ATM) as a Central Regulator of Radiation-Induced DNA Damage Response ». *Acta Medica (Hradec Kralove, Czech Republic)* 53 (1): 13–17. <https://doi.org/10.14712/18059694.2016.57>.
- Tochio, Naoya, Takashi Umehara, Seizo Koshiba, Makoto Inoue, Takashi Yabuki, Masaaki Aoki, Eiko Seki, et al. 2006. « Solution Structure of the SWIRM Domain of Human Histone Demethylase LSD1 ». *Structure* 14 (3): 457–468. <https://doi.org/10.1016/j.str.2005.12.004>.
- Tokino, Takashi, et Yusuke Nakamura. 2000. « The Role of P53-Target Genes in Human Cancer ». *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 33 (1): 1–6. [https://doi.org/10.1016/S1040-8428\(99\)00051-7](https://doi.org/10.1016/S1040-8428(99)00051-7).
- Tomida, J., A. Itaya, T. Shigechi, J. Unno, E. Uchida, M. Ikura, Y. Masuda, et al. 2013. « A Novel Interplay between the Fanconi Anemia Core Complex and ATR-ATRIP Kinase during DNA Cross-Link Repair ». *Nucleic Acids Research* 41 (14): 6930–6941. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt467>.
- Totonchy, Mariam B., Deborah Tamura, Matthew S. Pantell, Christopher Zalewski, Porcia T. Bradford, Saamil N. Merchant, Joseph Nadol, et al. 2013. « Auditory Analysis of Xeroderma Pigmentosum 1971–2012: Hearing Function, Sun Sensitivity and DNA Repair Predict Neurological Degeneration ». *Brain* 136 (1): 194–208. <https://doi.org/10.1093/brain/aws317>.
- Touzot, F., I. Callebaut, J. Soulier, L. Gaillard, C. Azerrad, A. Durandy, A. Fischer, J.-P. de Villartay, et P. Revy. 2010. « Function of Apollo (SNM1B) at Telomere Highlighted by a Splice Variant Identified in a Patient with Hoyeraal-Hreidarsson Syndrome ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107 (22): 10097–10102. <https://doi.org/10.1073/pnas.0914918107>.
- Touzot, F., L. Dal-Cortivo, V. Verkarre, A. Lim, A. Crucis-Armengaud, D. Moshous, S. Heritier, et al. 2012. « Massive Expansion of Maternal T Cells in Response to EBV Infection in a Patient with SCID-X1 ». *Blood* 120 (9): 1957–1959. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-04-426833>.
- Townsley, D. M., B. Dumitriu, et N. S. Young. 2014. « Bone Marrow Failure and the Telomeropathies ». *Blood* 124 (18): 2775–2783. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-526285>.
- Trahan, C., et F. Dragon. 2009. « Dyskeratosis Congenita Mutations in the H/ACA Domain of Human Telomerase RNA Affect Its Assembly into a Pre-RNP ». *RNA* 15 (2): 235–243. <https://doi.org/10.1261/rna.1354009>.
- Trahan, C., C. Martel, et F. Dragon. 2010. « Effects of Dyskeratosis Congenita Mutations in Dyskerin, NHP2 and NOP10 on Assembly of H/ACA Pre-RNPs ». *Human Molecular Genetics* 19 (5): 825–836. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp551>.
- Troumani, Y., F. Ackermann, S. Cohen, S. Touhami, G. Nasser, C. Denier, M. Labetoulle, et A. Rousseau. 2016. « Coats Plus : la version systémique de la maladie de Coats ». *Journal Français d’Ophtalmologie* 39 (7): e167–170. <https://doi.org/10.1016/j.jfo.2015.06.015>.
- Truong, L. N., Y. Li, L. Z. Shi, P. Y.-H. Hwang, J. He, H. Wang, N. Razavian, M. W. Berns, et X. Wu. 2013. « Microhomology-Mediated End Joining and Homologous Recombination Share the Initial End Resection Step to Repair DNA Double-Strand Breaks in Mammalian Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (19): 7720–7725. <https://doi.org/10.1073/pnas.1213431110>.

- Tsakiri, K. D., J. T. Cronkhite, P. J. Kuan, C. Xing, G. Raghu, J. C. Weissler, R. L. Rosenblatt, J. W. Shay, et C. K. Garcia. 2007. « Adult-Onset Pulmonary Fibrosis Caused by Mutations in Telomerase ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (18): 7552–57. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701009104>.
- Tsilou, Ekaterini T., Neelam Giri, Sarah Weinstein, Christine Mueller, Sharon A. Savage, et Blanche P. Alter. 2010. « Ocular and Orbital Manifestations of the Inherited Bone Marrow Failure Syndromes: Fanconi Anemia and Dyskeratosis Congenita ». *Ophthalmology* 117 (3): 615–22. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2009.08.023>.
- Tubbs, Anthony, et André Nussenzweig. 2017. « Endogenous DNA Damage as a Source of Genomic Instability in Cancer ». *Cell* 168 (4): 644–56. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.002>.
- Tummala, Hemanth, Amanda Walne, Laura Collopy, Shirleny Cardoso, Josu de la Fuente, Sarah Lawson, James Powell, et al. 2015. « Poly(A)-Specific Ribonuclease Deficiency Impacts Telomere Biology and Causes Dyskeratosis Congenita ». *Journal of Clinical Investigation* 125 (5): 2151–60. <https://doi.org/10.1172/JCI78963>.
- Ullrich, Nicole J., et Leslie B. Gordon. 2015. « Hutchinson–Gilford Progeria Syndrome ». In *Handbook of Clinical Neurology*, 132:249–64. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62702-5.00018-4>.
- Uziel, Orit, Joelle Attal Singer, Vladimir Danicek, Gideon Sahar, Evgeny Berkov, Michael Luchansky, Abigail Fraser, Ron Ram, et Meir Lahav. 2007. « Telomere Dynamics in Arteries and Mononuclear Cells of Diabetic Patients: Effect of Diabetes and of Glycemic Control ». *Experimental Gerontology* 42 (10): 971–78. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.07.005>.
- Uziel, T. 2003. « Requirement of the MRN Complex for ATM Activation by DNA Damage ». *The EMBO Journal* 22 (20): 5612–21. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg541>.
- Van Beneden, Amandine, Nausica Arnoult, et Anabelle Decottignies. 2013. « Telomeric RNA Expression: Length Matters ». *Frontiers in Oncology* 3. <https://doi.org/10.3389/fonc.2013.00178>.
- Van Ly, David, Ronnie Ren Jie Low, Sonja Frölich, Tara K. Bartolec, Georgia R. Kafer, Hilda A. Pickett, Katharina Gaus, et Anthony J. Cesare. 2018. « Telomere-Loop Dynamics in Chromosome End Protection », mars. <https://doi.org/10.1101/279877>.
- Van Nostrand, Jeanine L., Colleen A. Brady, Heiyoun Jung, Daniel R. Fuentes, Margaret M. Kozak, Thomas M. Johnson, Chieh-Yu Lin, et al. 2014. « Inappropriate P53 Activation during Development Induces Features of CHARGE Syndrome ». *Nature* 514 (7521): 228–32. <https://doi.org/10.1038/nature13585>.
- Vannier, Jean-Baptiste, Visnja Pavicic-Kaltenbrunner, Mark I.R. Petalcorin, Hao Ding, et Simon J. Boulton. 2012. « RTEL1 Dismantles T Loops and Counteracts Telomeric G4-DNA to Maintain Telomere Integrity ». *Cell* 149 (4): 795–806. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.030>.
- Venteicher, Andrew S., et Steven E. Artandi. 2009. « TCAB1: Driving Telomerase to Cajal Bodies ». *Cell Cycle* 8 (9): 1329–31. <https://doi.org/10.4161/cc.8.9.8288>.
- Vera, Dias, Junn Eunsung, et Mouradian M. Maral. 2013. « The Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease ». *Journal of Parkinson's Disease*, n° 4: 461–491. <https://doi.org/10.3233/JPD-130230>.
- Viceconte, Nikenza, Marie-Sophie Dheur, Eva Majerova, Christophe E. Pierreux, Jean-François Baurain, Nicolas van Baren, et Anabelle Decottignies. 2017. « Highly Aggressive Metastatic Melanoma Cells Unable to Maintain Telomere Length ». *Cell Reports* 19 (12): 2529–43. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.05.046>.
- Victorelli, Stella, et João F. Passos. 2017. « Telomeres and Cell Senescence - Size Matters Not ». *EBioMedicine* 21 (juillet): 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.03.027>.

- Vignard, Julien, Gladys Mirey, et Bernard Salles. 2013. « Ionizing-Radiation Induced DNA Double-Strand Breaks: A Direct and Indirect Lighting Up ». *Radiotherapy and Oncology* 108 (3): 362–69. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2013.06.013>.
- Vilagos, Bojan, Mareike Hoffmann, Abdallah Souabni, Qiong Sun, Barbara Werner, Jasna Medvedovic, Ivan Bilic, et al. 2012. « Essential Role of EBF1 in the Generation and Function of Distinct Mature B Cell Types ». *The Journal of Experimental Medicine* 209 (4): 775–92. <https://doi.org/10.1084/jem.20112422>.
- Villartay, Jean-Pierre de, Catherine Poinsignon, Regina de Chasseval, Dietke Buck, Gwenaël Le Guyader, et Isabelle Villey. 2003. « Human and Animal Models of V(D)J Recombination Deficiency ». *Current Opinion in Immunology* 15 (5): 592–98. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(03\)00101-8](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(03)00101-8).
- Vimalraj, S., B. Arumugam, P.J. Miranda, et N. Selvamurugan. 2015. « Runx2: Structure, Function, and Phosphorylation in Osteoblast Differentiation ». *International Journal of Biological Macromolecules* 78 (juillet): 202–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.008>.
- Virtanen, Anders, Niklas Henriksson, Per Nilsson, et Mikael Nissbeck. 2013. « Poly(A)-Specific Ribonuclease (PARN): An Allosterically Regulated, Processive and mRNA Cap-Interacting Deadenylase ». *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 48 (2): 192–209. <https://doi.org/10.3109/10409238.2013.771132>.
- Vulliamy, T., R. Beswick, M. Kirwan, A. Marrone, M. Digweed, A. Walne, et I. Dokal. 2008. « Mutations in the Telomerase Component NHP2 Cause the Premature Ageing Syndrome Dyskeratosis Congenita ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (23): 8073–78. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800042105>.
- Wahba, Lamia, Steven K Gore, et Douglas Koshland. 2013. « The Homologous Recombination Machinery Modulates the Formation of RNA–DNA Hybrids and Associated Chromosome Instability ». *ELife* 2 (juin). <https://doi.org/10.7554/eLife.00505>.
- Walden, Helen, et Andrew J. Deans. 2014. « The Fanconi Anemia DNA Repair Pathway: Structural and Functional Insights into a Complex Disorder ». *Annual Review of Biophysics* 43 (1): 257–78. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-051013-022737>.
- Walker, Graeme J., et Nicholas K. Hayward. 2002. « Pathways to Melanoma Development: Lessons from the Mouse ». *Journal of Investigative Dermatology* 119 (4): 783–92. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2002.00217.x>.
- Walker, John R, Richard A Corpina, et Jonathan Goldberg. 2001. « Structure of the Ku Heterodimer Bound to DNA and Its Implications for Double-Strand Break Repair » 412: 8.
- Walne, A. J., T. Vulliamy, R. Beswick, M. Kirwan, et I. Dokal. 2008. « TINF2 Mutations Result in Very Short Telomeres: Analysis of a Large Cohort of Patients with Dyskeratosis Congenita and Related Bone Marrow Failure Syndromes ». *Blood* 112 (9): 3594–3600. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-153445>.
- Walne, Amanda J., Tom Vulliamy, Anna Marrone, Richard Beswick, Michael Kirwan, Yuka Masunari, Fat-hia Al-Qurashi, Mahmoud Aljurf, et Inderjeet Dokal. 2007. « Genetic Heterogeneity in Autosomal Recessive Dyskeratosis Congenita with One Subtype Due to Mutations in the Telomerase-Associated Protein NOP10 ». *Human Molecular Genetics* 16 (13): 1619–29. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm111>.
- Waltes, Regina, Reinhard Kalb, Magtouf Gatei, Amanda W. Kijas, Markus Stumm, Alexandra Sobeck, Britta Wieland, et al. 2009. « Human RAD50 Deficiency in a Nijmegen Breakage Syndrome-like Disorder ». *The American Journal of Human Genetics* 84 (5): 605–16. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.04.010>.
- Wang, A. T., B. Sengerova, E. Cattell, T. Inagawa, J. M. Hartley, K. Kiakos, N. A. Burgess-Brown, et al. 2011. « Human SNM1A and XPF-ERCC1 Collaborate to Initiate DNA Interstrand Cross-Link Repair ». *Genes & Development* 25 (17): 1859–70. <https://doi.org/10.1101/gad.15699211>.

- Wang, Feng, Jason A. Stewart, Christopher Kasbek, Yong Zhao, Woodring E. Wright, et Carolyn M. Price. 2012. « Human CST Has Independent Functions during Telomere Duplex Replication and C-Strand Fill-In ». *Cell Reports* 2 (5): 1096–1103. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.10.007>.
- Wang, Hengbin, Liangjun Wang, Hediye Erdjument-Bromage, Miguel Vidal, Paul Tempst, Richard S. Jones, et Yi Zhang. 2004. « Role of Histone H2A Ubiquitination in Polycomb Silencing ». *Nature* 431 (7010): 873–878. <https://doi.org/10.1038/nature02985>.
- Wang, Huichen, Bustanur Rosidi, Ronel Perrault, Minli Wang, Lihua Zhang, Frank Windhofer, et George Iliakis. 2005. « DNA Ligase III as a Candidate Component of Backup Pathways of Nonhomologous End Joining ». *Cancer Research* 65 (10): 4020–4030. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-3055>.
- Wang, James C. 2002. « Cellular Roles of DNA Topoisomerases: A Molecular Perspective ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 3 (6): 430–440. <https://doi.org/10.1038/nrm831>.
- Wang, Jianwei, Qian Sun, Yohei Morita, Hong Jiang, Alexander Groß, André Lechel, Kai Hildner, et al. 2012. « A Differentiation Checkpoint Limits Hematopoietic Stem Cell Self-Renewal in Response to DNA Damage ». *Cell* 148 (5): 1001–1014. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.040>.
- Wang, Jing L., Camille Duboc, Qian Wu, Takashi Ochi, Shikang Liang, Susan E. Tsutakawa, Susan P. Lees-Miller, et al. 2018. « Dissection of DNA Double-Strand-Break Repair Using Novel Single-Molecule Forceps ». *Nature Structural & Molecular Biology* 25 (6): 482–487. <https://doi.org/10.1038/s41594-018-0065-1>.
- Wang, Q., J.-q. Liu, Z. Chen, K.-w. Zheng, C.-y. Chen, Y.-h. Hao, et Z. Tan. 2011. « G-Quadruplex Formation at the 3' End of Telomere DNA Inhibits Its Extension by Telomerase, Polymerase and Unwinding by Helicase ». *Nucleic Acids Research* 39 (14): 6229–6237. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr164>.
- Wang, Shunxin, Denise Zickler, Nancy Kleckner, et Liangran Zhang. 2015. « Meiotic Crossover Patterns: Obligatory Crossover, Interference and Homeostasis in a Single Process ». *Cell Cycle* 14 (3): 305–314. <https://doi.org/10.4161/15384101.2014.991185>.
- Wang, T., V. Nandakumar, X.-X. Jiang, L. Jones, A.-G. Yang, X. F. Huang, et S.-Y. Chen. 2013. « The Control of Hematopoietic Stem Cell Maintenance, Self-Renewal, and Differentiation by Mym1-Mediated Epigenetic Regulation ». *Blood* 122 (16): 2812–2822. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-03-489641>.
- Wang, Zhiquan, Honglian Zhang, Ji Liu, Abigail Cheruiyot, Jeong-Heon Lee, Tamas Ordog, Zhenkun Lou, Zhongsheng You, et Zhiguo Zhang. 2016. « USP51 Deubiquitylates H2AK13,15ub and Regulates DNA Damage Response ». *Genes & Development* 30 (8): 946–959. <https://doi.org/10.1101/gad.271841.115>.
- Watanabe, Reiko, Shin-ichiro Kanno, Amaneh Mohammadi Roushandeh, Ayako Ui, et Akira Yasui. 2017. « Nucleosome Remodelling, DNA Repair and Transcriptional Regulation Build Negative Feedback Loops in Cancer and Cellular Ageing ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372 (1731): 20160473. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0473>.
- Wawryk-Gawda, Ewelina, Patrycja Chylińska-Wrzos, Marta Lis-Sochocka, Katarzyna Chłapek, Kamila Bulak, Marian Jędrych, et Barbara Jodłowska-Jędrych. 2014. « P53 Protein in Proliferation, Repair and Apoptosis of Cells ». *Protoplasma* 251 (3): 525–533. <https://doi.org/10.1007/s00709-013-0548-1>.
- Wellinger, Raymund J. 2014. « In the End, What's the Problem? ». *Molecular Cell* 53 (6): 855–856. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.03.008>.
- Weng, N.-p., L. Granger, et R. J. Hodes. 1997. « Telomere Lengthening and Telomerase Activation during Human B Cell Differentiation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94 (20): 10827–10832. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.20.10827>.

- Weren, Robbert D A, Marjolijn J L Ligtenberg, C Marleen Kets, Richarda M de Voer, Eugène T P Verwiel, Liesbeth Spruijt, Wendy A G van Zelst-Stams, et al. 2015. « A Germline Homozygous Mutation in the Base-Excision Repair Gene NTHL1 Causes Adenomatous Polyposis and Colorectal Cancer ». *Nature Genetics* 47 (6): 668–71. <https://doi.org/10.1038/ng.3287>.
- West, Stephen C., Miguel G. Blanco, Ying Wai Chan, Joao Matos, Shriparna Sarbajna, et Haley D.M. Wyatt. 2015. « Resolution of Recombination Intermediates: Mechanisms and Regulation ». *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 80: 103–9. <https://doi.org/10.1101/sqb.2015.80.027649>.
- Wieczór, Miłosz, et Jacek Czub. 2017. « How Proteins Bind to DNA: Target Discrimination and Dynamic Sequence Search by the Telomeric Protein TRF1 ». *Nucleic Acids Research* 45 (13): 7643–54. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx534>.
- Willeit, P., J. Willeit, A. Brandstatter, S. Ehrlenbach, A. Mayr, A. Gasperi, S. Weger, et al. 2010. « Cellular Aging Reflected by Leukocyte Telomere Length Predicts Advanced Atherosclerosis and Cardiovascular Disease Risk ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 30 (8): 1649–56. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.205492>.
- Williams, Gareth J., Michal Hammel, Sarvan Kumar Radhakrishnan, Dale Ramsden, Susan P. Lees-Miller, et John A. Tainer. 2014. « Structural Insights into NHEJ: Building up an Integrated Picture of the Dynamic DSB Repair Super Complex, One Component and Interaction at a Time ». *DNA Repair* 17 (mai): 110–20. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2014.02.009>.
- Wilms, Christina, Ioanna Krikki, Adelheid Hainzl, Sonja Kilo, Marius Alupei, Evgenia Makrantonaki, Maximilian Wagner, Carsten Kroeger, Titus Brinker, et Martina Gatzka. 2018. « 2A-DUB/Mysm1 Regulates Epidermal Development in Part by Suppressing P53-Mediated Programs ». *International Journal of Molecular Sciences* 19 (3): 687. <https://doi.org/10.3390/ijms19030687>.
- Wilms, Christina, Carsten M. Kroeger, Adelheid V. Hainzl, Ishani Banik, Clara Bruno, Ioanna Krikki, Vida Farsam, Meinhard Wlaschek, et Martina V. Gatzka. 2017. « MYSM1/2A-DUB Is an Epigenetic Regulator in Human Melanoma and Contributes to Tumor Cell Growth ». *Oncotarget* 8 (40). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18617>.
- Wilson, Brian T., Zornitza Stark, Ruth E. Sutton, Sumita Danda, Alka V. Ekbote, Solaf M. Elsayed, Louise Gibson, et al. 2016. « The Cockayne Syndrome Natural History (CoSyNH) Study: Clinical Findings in 102 Individuals and Recommendations for Care ». *Genetics in Medicine* 18 (5): 483–93. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.110>.
- Wilson, Marcus D., Samir Benlekbir, Amélie Fradet-Turcotte, Alana Sherker, Jean-Philippe Julien, Andrea McEwan, Sylvie M. Noordermeer, Frank Sicheri, John L. Rubinstein, et Daniel Durocher. 2016. « The Structural Basis of Modified Nucleosome Recognition by 53BP1 ». *Nature* 536 (7614): 100–103. <https://doi.org/10.1038/nature18951>.
- Wilson, Marena A., YoungHo Kwon, Yuanyuan Xu, Woo-Hyun Chung, Peter Chi, Hengyao Niu, Ryan Mayle, et al. 2013. « Pif1 Helicase and Polδ Promote Recombination-Coupled DNA Synthesis via Bubble Migration ». *Nature* 502 (7471): 393–96. <https://doi.org/10.1038/nature12585>.
- Won, H., V. Nandakumar, P. Yates, S. Sanchez, L. Jones, X. F. Huang, et S.-Y. Chen. 2014. « Epigenetic Control of Dendritic Cell Development and Fate Determination of Common Myeloid Progenitor by Mysm1 ». *Blood* 124 (17): 2647–56. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-10-534313>.
- Wood, Ashley M., Jannie M. Rendtlew Danielsen, Catherine A. Lucas, Ellen L. Rice, David Scalzo, Takeshi Shimi, Robert D. Goldman, Erica D. Smith, Michelle M. Le Beau, et Steven T. Kosak. 2014. « TRF2 and Lamin A/C Interact to Facilitate the Functional Organization of Chromosome Ends ». *Nature Communications* 5 (1). <https://doi.org/10.1038/ncomms6467>.

- Wood, Richard D., et Sylvie Doubl  . 2016. « DNA Polymerase θ (POLQ), Double-Strand Break Repair, and Cancer ». *DNA Repair* 44 (ao  t): 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2016.05.003>.
- Wright, W. E., V. M. Tesmer, K. E. Huffman, S. D. Levene, et J. W. Shay. 1997. « Normal Human Chromosomes Have Long G-Rich Telomeric Overhangs at One End ». *Genes & Development* 11 (21): 2801–9. <https://doi.org/10.1101/gad.11.21.2801>.
- Wright, William Douglass, et Wolf-Dietrich Heyer. 2014. « Rad54 Functions as a Heteroduplex DNA Pump Modulated by Its DNA Substrates and Rad51 during D Loop Formation ». *Molecular Cell* 53 (3): 420–32. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.12.027>.
- Wu, Leonard, et Ian D. Hickson. 2003. « The Bloom’s Syndrome Helicase Suppresses Crossing over during Homologous Recombination ». *Nature* 426 (6968): 870–74. <https://doi.org/10.1038/nature02253>.
- Wu, W., H. Nishikawa, T. Fukuda, V. Vittal, M. Asano, Y. Miyoshi, R. E. Klevit, et T. Ohta. 2015. « Interaction of BARD1 and HP1 Is Required for BRCA1 Retention at Sites of DNA Damage ». *Cancer Research* 75 (7): 1311–21. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-2796>.
- Wu, Yili, Shujie Xiao, et Xu-Dong Zhu. 2007. « MRE11–RAD50–NBS1 and ATM Function as Co-Mediators of TRF1 in Telomere Length Control ». *Nature Structural & Molecular Biology* 14 (9): 832–40. <https://doi.org/10.1038/nsmb1286>.
- Wyatt, Haley D.M., Rob C. Laister, Stephen R. Martin, Cheryl H. Arrowsmith, et Stephen C. West. 2017. « The SMX DNA Repair Tri-Nuclease ». *Molecular Cell* 65 (5): 848–860.e11. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.01.031>.
- Wyatt, Haley D.M., Shriparna Sarbajna, Joao Matos, et Stephen C. West. 2013. « Coordinated Actions of SLX1–SLX4 and MUS81–EME1 for Holliday Junction Resolution in Human Cells ». *Molecular Cell* 52 (2): 234–47. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.08.035>.
- Xin, Huawei, Dan Liu, Ma Wan, Amin Safari, Hyeung Kim, Wen Sun, Matthew S. O’Connor, et Zhou Songyang. 2007. « TPP1 Is a Homologue of Ciliate TEBP- β and Interacts with POT1 to Recruit Telomerase ». *Nature* 445 (7127): 559–62. <https://doi.org/10.1038/nature05469>.
- Xu, Y., Y. Suzuki, K. Ito, et M. Komiyama. 2010. « Telomeric Repeat-Containing RNA Structure in Living Cells ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107 (33): 14579–84. <https://doi.org/10.1073/pnas.1001177107>.
- Xu, Yan, et Makoto Komiyama. 2012. « Structure, Function and Targeting of Human Telomere RNA ». *Methods* 57 (1): 100–105. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2012.02.015>.
- Xu, Ye, Marina K. Ayrapetov, Chang Xu, Ozge Gursoy-Yuzugullu, Yiduo Hu, et Brendan D. Price. 2012. « Histone H2A.Z Controls a Critical Chromatin Remodeling Step Required for DNA Double-Strand Break Repair ». *Molecular Cell* 48 (5): 723–33. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.09.026>.
- Xu, Ye, et Brendan D. Price. 2011. « Chromatin Dynamics and the Repair of DNA Double Strand Breaks ». *Cell Cycle* 10 (2): 261–67. <https://doi.org/10.4161/cc.10.2.14543>.
- Xu, Ye, Yingli Sun, Xiaofeng Jiang, Marina K. Ayrapetov, Patryk Moskwa, Shenghong Yang, David M. Weinstock, et Brendan D. Price. 2010. « The P400 ATPase Regulates Nucleosome Stability and Chromatin Ubiquitination during DNA Repair ». *The Journal of Cell Biology* 191 (1): 31–43. <https://doi.org/10.1083/jcb.201001160>.
- Yamanaka, Kinrin, Irina G. Minko, Kei-ichi Takata, Alexander Kolbanovskiy, Ivan D. Kozekov, Richard D. Wood, Carmelo J. Rizzo, et R. Stephen Lloyd. 2010. « Novel Enzymatic Function of DNA Polymerase ν in Translesion DNA Synthesis Past Major Groove DNA–Peptide and DNA–DNA Cross-Links ». *Chemical Research in Toxicology* 23 (3): 689–95. <https://doi.org/10.1021/tx900449u>.
- Yanez, Giscard H., Sheik J. Khan, Alexandra M. Locovei, Ilene M. Pedroso, et Terace M. Fletcher. 2005. « DNA Structure-Dependent Recruitment of Telomeric Proteins to Single-

- Stranded/Double-Stranded DNA Junctions ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 328 (1): 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.12.134>.
- Ye, Jeffrey Zheng-Sheng, Jill R. Donigian, Megan van Overbeek, Diego Loayza, Yan Luo, Andrew N. Krutchinsky, Brian T. Chait, et Titia de Lange. 2004. « TIN2 Binds TRF1 and TRF2 Simultaneously and Stabilizes the TRF2 Complex on Telomeres ». *Journal of Biological Chemistry* 279 (45): 47264–71. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409047200>.
- Yehezkel, Shiran, Yardena Segev, Evani Viegas-Péquignot, Karl Skorecki, et Sara Selig. 2008. « Hypomethylation of Subtelomeric Regions in ICF Syndrome Is Associated with Abnormally Short Telomeres and Enhanced Transcription from Telomeric Regions ». *Human Molecular Genetics* 17 (18): 2776–89. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn177>.
- Yoneyama, Misao, Naoya Tochio, Takashi Umehara, Seizo Koshiba, Makoto Inoue, Takashi Yabuki, Masaaki Aoki, et al. 2007. « Structural and Functional Differences of SWIRM Domain Subtypes ». *Journal of Molecular Biology* 369 (1): 222–38. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.03.027>.
- Yu, H., H. Pak, I. Hammond-Martel, M. Ghram, A. Rodrigue, S. Daou, H. Barbour, et al. 2014. « Tumor Suppressor and Deubiquitinase BAP1 Promotes DNA Double-Strand Break Repair ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111 (1): 285–90. <https://doi.org/10.1073/pnas.1309085110>.
- Yu, Hongtao. 2013. « EGNNVC-IIR20001N62M03.ENTAL CARCINOGENIC POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS: PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOTOXICITY », 43.
- Yu, Tai-Yuan, Yu-wen Kao, et Jing-Jer Lin. 2014. « Telomeric Transcripts Stimulate Telomere Recombination to Suppress Senescence in Cells Lacking Telomerase ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111 (9): 3377–82. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307415111>.
- Yuan, Fenghua, Liya Gu, Shuangli Guo, Chunmei Wang, et Guo-Min Li. 2004. « Evidence for Involvement of HMGB1 Protein in Human DNA Mismatch Repair ». *Journal of Biological Chemistry* 279 (20): 20935–40. <https://doi.org/10.1074/jbc.M401931200>.
- Zglinicki, T. von, G. Saretzki, J. Ladhoff, F. d'Adda di Fagagna, et S.P. Jackson. 2005. « Human Cell Senescence as a DNA Damage Response ». *Mechanisms of Ageing and Development* 126 (1): 111–17. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2004.09.034>.
- Zhang, Dong, Kathrin Zaugg, Tak W. Mak, et Stephen J. Elledge. 2006. « A Role for the Deubiquitinating Enzyme USP28 in Control of the DNA-Damage Response ». *Cell* 126 (3): 529–42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.039>.
- Zhang, F., Y. Wen, et X. Guo. 2014. « CRISPR/Cas9 for Genome Editing: Progress, Implications and Challenges ». *Human Molecular Genetics* 23 (R1): R40–46. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu125>.
- Zhang, Shu, Corinne Pondarre, Gaele Pennarun, Helene Labussiere-Wallet, Gabriella Vera, Benoit France, Marie Chansel, et al. 2016. « A Nonsense Mutation in the DNA Repair Factor Hebo Causes Mild Bone Marrow Failure and Microcephaly ». *The Journal of Experimental Medicine* 213 (6): 1011–28. <https://doi.org/10.1084/jem.20151183>.
- Zhang, Xiao, Shao Lin, William E Funk, et Lifang Hou. 2013. « Environmental and Occupational Exposure to Chemicals and Telomere Length in Human Studies ». *Occupational and Environmental Medicine* 70 (10): 743–49. <https://doi.org/10.1136/oemed-2012-101350>.
- Zhang, Yanbin, Fenghua Yuan, Steven R. Presnell, Keli Tian, Yin Gao, Alan E. Tomkinson, Liya Gu, et Guo-Min Li. 2005. « Reconstitution of 5'-Directed Human Mismatch Repair in a Purified System ». *Cell* 122 (5): 693–705. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.06.027>.
- Zhao, Weixing, Justin B. Steinfeld, Fengshan Liang, Xiaoyong Chen, David G. Maranon, Chu Jian Ma, Youngho Kwon, et al. 2017. « BRCA1–BARD1 Promotes RAD51-Mediated Homologous DNA Pairing ». *Nature* 550 (7676): 360–65. <https://doi.org/10.1038/nature24060>.

- Zhao, Yue, Guillaume Lang, Saya Ito, Jacques Bonnet, Eric Metzger, Shun Sawatsubashi, Eriko Suzuki, et al. 2008. « A TFTC/STAGA Module Mediates Histone H2A and H2B Deubiquitination, Coactivates Nuclear Receptors, and Counteracts Heterochromatin Silencing ». *Molecular Cell* 29 (1): 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.12.011>.
- Zheng, Yupeng, Jeremiah D. Tipton, Paul M. Thomas, Neil L. Kelleher, et Steve M. M. Sweet. 2014. « Site-Specific Human Histone H3 Methylation Stability: Fast K4me3 Turnover ». *PROTEOMICS* 14 (19): 2190–2199. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400060>.
- Zhong, F., S. A. Savage, M. Shkreli, N. Giri, L. Jessop, T. Myers, R. Chen, B. P. Alter, et S. E. Artandi. 2011. « Disruption of Telomerase Trafficking by TCAB1 Mutation Causes Dyskeratosis Congenita ». *Genes & Development* 25 (1): 11–16. <https://doi.org/10.1101/gad.2006411>.
- Zhou, Lei, Liyin Shi, Hua Guo, et Xin Yao. 2016. « MYSM-1 Suppresses Migration and Invasion in Renal Carcinoma through Inhibiting Epithelial-Mesenchymal Transition ». *Tumor Biology* 37 (12): 15583–15591. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4138-z>.
- Zhu, Ping, Wenlai Zhou, Jianxun Wang, Janusz Puc, Kenneth A. Ohgi, Hediye Erdjument-Bromage, Paul Tempst, Christopher K. Glass, et Michael G. Rosenfeld. 2007. « A Histone H2A Deubiquitinase Complex Coordinating Histone Acetylation and H1 Dissociation in Transcriptional Regulation ». *Molecular Cell* 27 (4): 609–621. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.07.024>.
- Zhu, Zhu, Woo-Hyun Chung, Eun Yong Shim, Sang Eun Lee, et Grzegorz Ira. 2008. « Sgs1 Helicase and Two Nucleases Dna2 and Exo1 Resect DNA Double-Strand Break Ends ». *Cell* 134 (6): 981–994. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.08.037>.
- Zimmermann, Michal, Tatsuya Kibe, Shaheen Kabir, et Titia de Lange. 2014. « TRF1 Negotiates TTAGGG Repeat-Associated Replication Problems by Recruiting the BLM Helicase and the TPP1/POT1 Repressor of ATR Signaling ». *Genes & Development* 28 (22): 2477–2491. <https://doi.org/10.1101/gad.251611.114>.
- Zou, L. 2003. « Sensing DNA Damage Through ATRIP Recognition of RPA-SsDNA Complexes ». *Science* 300 (5625): 1542–1548. <https://doi.org/10.1126/science.1083430>.