

Titre du projet de recherche : Etude du lien énigmatique qui unit l'assemblage des chromosomes mitotiques à la réplication du génome en phase S.

Mots clés : Organisation 3D du génome, condensine, chromosomes mitotiques, réplication, génomique, *S. pombe*.

Laboratoire : LBMC - Laboratoire de Biologie et Modélisation de la Cellule

Chef d'équipe : Pascal BERNARD PhD, Directeur de Recherche CNRS, pascal.bernard@ens-lyon.fr, 04 72 72 81 97

Encadrant du stage : Pascal BERNARD. **Contact:** pascal.bernard@ens-lyon.fr

Adresse du stage : LBMC, ENS de Lyon, site J. Monod

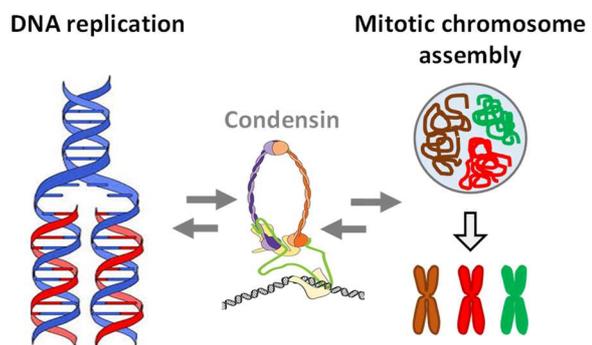
Site internet de l'équipe : <https://www.ens-lyon.fr/LBMC/equipes/architecture-et-dynamique-fonctionnelle-des-chromosomes>

Langues parlées dans l'équipe : français & anglais

Anciens étudiants encadrés : Jérémy Lebreton, jeremy.lebreton@ens-lyon.fr

Description du projet :

Chez les eucaryotes, la réplication du génome en phase S et sa transmission en mitose sont séparées dans le temps. Pourtant, des évidences expérimentales impliquent une connexion entre ces deux grandes fonctions du génome, impliquée dans la cancérogenèse des cellules, mais dont la nature demeure inconnue. L'objectif du stage est de rechercher les mécanismes mis en jeu en utilisant le pouvoir exploratoire du modèle levure *S. pombe*.



Condensine est une ADN-translocase, organisatrice du génome et responsable de l'assemblage des chromosomes mitotiques. Il a été montré qu'une défaillance locale de réplication durant la phase S altère en cis la fixation de condensine à l'ADN durant la mitose qui suit (Boteva *et al*, 2020). Ceci entraîne la formation de sites dits fragiles dans les chromosomes mitotiques, lesquels sont responsables de la cancérogénèse des cellules. Bien que les mécanismes mis en jeu demeurent inconnus, ces observations indiquent l'existence d'un lien entre la réplication et condensine. Et comprendre la nature de ce lien permettra de mieux comprendre la biogenèse des sites chromosomiques fragiles. Puisque condensine se fixe à l'ADN principalement en mitose, il s'agit donc de comprendre comment la réplication de l'ADN en phase S impacte localement et dans le temps (i.e. au travers de la phase G2) la fixation de condensine aux chromosomes.

Les travaux de notre équipe suggèrent la possibilité d'un rôle pour des modifications de la chromatine (Toselli-Mollereau *et al*, 2016). Réciproquement, d'autres évidences suggèrent que condensine pourrait prendre part à la réplication du génome en phase S (Aono *et al*, 2002). Condensine pourrait donc être la molécule qui fait le lien entre la réplication du génome et l'assemblage des chromosomes mitotiques.

Notre équipe étudie le complexe condensine en utilisant des cellules humaines en culture et la levure *S. pombe* comme organismes modèles. En combinant des approches de génétique classique et de protéomique chez *S. pombe*, nous avons isolé des mutants de condensine défailants pour la réplication et identifié des facteurs de réplication comme des partenaires physiques de condensine. L'objectif du stage sera d'étudier plus avant comment condensine prend part à la réplication du génome en utilisant ces mutants et ces facteurs d'interaction ainsi que les facilités expérimentales et exploratoires offertes par le système levure.

Les étudiant.e.s intéressé.e.s sont invité.e.s à prendre contact avec le responsable pour obtenir plus de détails sur les aspects scientifiques et techniques du stage.

Techniques utilisées durant le stage : Culture et synchronisation de cellules au cours du cycle cellulaire. • Création de mutants conditionnels via le système auxin-induced degradation. • Génomique fonctionnelle semi-quantitative : ChIP-seq calibrée, MNase-seq. • Analyse de l'organisation 3D du génome par Hi-C. • Microscopie à fluorescence. • Co-immunoprécipitation de protéines. • Microscopie de molécules uniques.

Publications d'intérêt

Aono N, Sutani T, Tomonaga T, Mochida S & Yanagida M (2002) Cnd2 has dual roles in mitotic condensation and interphase. *Nature* 417: 197–202

Boteva L, Nozawa R-S, Naughton C, Samejima K, Earnshaw WC & Gilbert N (2020) Common Fragile Sites Are Characterized by Faulty Condensin Loading after Replication Stress. *Cell Rep* 32: 108177

Toselli-Mollereau E, Robellet X, Fauque L, Lemaire S, Schiklenk C, Klein C, Hocquet C, Legros P, N'Guyen L, Mouillard L, *et al* (2016) Nucleosome eviction in mitosis assists condensin loading and chromosome condensation. *EMBO J* 35: 1565–1581