



**Titre de thèse :** *Analyse exploratoire des approches par saut d'exon dans le traitement des syndromes lymphoprolifératifs (Acronyme : « LYMPHO-SKIP »)*

**Financement :** MESR + AAPNA sous réserve

**Nom de l'équipe et du directeur :** UMR CNRS 7276 CRIBL – Pr Michel COGNE

**Encadrant :** Laurent DELPY

**Contact :** laurent.delpy@unilim.fr

**Mots clés :** Immunoglobulines, antisens oligonucléotides, saut d'exon, myélome, brevet

**Profil et compétences recherchées :** Le(la) candidat(e) doit présenter des compétences théoriques en immunologie et en particulier sur la biologie des lymphocytes B. Il (elle) doit également maîtriser les techniques classiques de biologie cellulaire et moléculaire (culture cellulaire, cytométrie en flux, Western Blot, ELISA, PCR quantitative...) et être capable de travailler sur des modèles de souris.

**Description de la problématique de recherche :** Le projet de recherche « Lympho-Skip » s'inscrit dans le cadre d'une recherche sur les hémopathies malignes (cancers des cellules du sang). Nous proposons de tester l'efficacité des approches dites « de saut d'exon » dans le traitement et la compréhension des cancers des lymphocytes B (myélome, lymphomes B). Ce projet s'appuie sur nos résultats récents montrant que les immunoglobulines (Ig) tronquées sont toxiques dans les plasmocytes normaux et tumoraux. Ces chaînes d'Ig aberrantes produites par saut d'exon sont dépourvues de domaine variable (site de reconnaissance de l'antigène par l'anticorps). Leur présence exacerbe le stress cellulaire et conduit à l'apoptose des plasmocytes.

**Thématiques Domaine Contexte :** Cancerologie (hémopathies malignes), Immunologie, Saut d'exon (oligonucléotides antisens)

**Objectifs :** Le principal objectif du projet « Lympho-Skip » est de poursuivre la valorisation d'une stratégie innovante de saut d'exon en l'appliquant à la thérapeutique et à la compréhension des mécanismes de cancérisation du lymphocyte B.

**Méthode :** Le saut d'exon consiste à altérer la maturation (appelée aussi épissage) des ARN en forçant l'élimination d'un exon. Le message ainsi porté par l'ARNm modifié conduit à la traduction d'une protéine altérée. Les stratégies de saut d'exon que nous souhaitons développer cibleront soit les gènes d'immunoglobulines (axe 1), soit le facteur cRel de la voie NF- $\kappa$ B (axe 2). Quel que soit le gène ciblé, 2 méthodes innovantes seront utilisées pour forcer le saut d'exon : i) administration de petites molécules appelées oligonucléotides antisens (AON) pour modifier l'épissage des ARNm et, ii) utilisation de la technologie CRISPR/Cas9 (technique de pointe de mutagénèse dirigée) pour muter les sites d'épissage.

**Résultat attendu :** Le projet de recherche « Lympho-Skip » devrait avoir un impact majeur en recherche fondamentale et en santé publique dans le traitement des syndromes lymphoprolifératifs, tout en mettant l'accent sur la valorisation des stratégies innovantes de saut d'exon thérapeutique.

**Références bibliographiques :** Publications du laboratoire sur le thème proposé : Chemin G et al, J Immunol /184 (2010) 5009-5017 ; Tinguely A et al, Mol Cell Biol /32 (2012) 107-17 ; Srour N et al, J Exp Med, /213 (2016):109-22 ; Delpy L et al, Dépôt de brevet le 23/11/2015 (FR n°1561252) et demande d'extension PCT déposée le 22/11/2016 (n°PCT/EP2016/078475) : UTILISATION D'OLIGONUCLEOTIDES ANTISENS POUR PRODUIRE DES IG TRONQUEES PAR SAUT D'EXON POUR LE TRAITEMENT DE MALADIES IMPLIQUANT DES CELLULES DE LA LIGNEE B.



**Title of subject:** *Exploratory analysis of exon skipping approaches in the treatment of lymphoproliferative syndromes (Acronym: "LYMPHO-SKIP")*

**Financing :** MESR + subject to AAPNA

**Name of the team and the director :** UMR CNRS 7276 CRIBL – Pr Michel COGNE

**Supervisor:** Laurent Delpy – laurent.delpy@unilim.fr

**Keywords:** Immunoglobulins, antisense oligonucleotides, exon skipping, myeloma, patent

**Profile and skills:** The candidate must have theoretical competence in immunology and on the biology of B lymphocytes. He / she must also master the classical techniques of cellular and molecular biology (cell culture, flow cytometry, Western Blot, ELISA, qPCR...) and to be able to work on mouse models.

**Description of the research project:** The "Lympho-Skip" project is part of a research project on malignant hematological diseases (blood cell cancer). We propose to test the effectiveness of exon skipping approaches in the treatment and the understanding of B-cell cancers (myeloma, B lymphomas). This project is based on our recent findings that truncated immunoglobulins (Ig) are toxic in normal and tumor plasma cells. These aberrant Ig chains produced by exon skipping are devoid of variable domain (site of antigen recognition by the antibody). Their presence exacerbates cellular stress and leads to plasma cell apoptosis.

**Area/Context:** Cancerology (malignant hemopathies), Immunology, Exon skipping (antisense oligonucleotides)

**Objectives:** The main objective of the "Lympho-Skip" project is to pursue the valorization of an innovative exon skipping strategy, by applying it to the therapeutics and to the understanding of the mechanisms of cancer transformation of B-lineage cells.

**Methods:** Exon skipping is an alternative RNA splicing event leading to the elimination of an exon and to the translation of an altered protein. The exon skipping strategies that we wish to develop will target either the immunoglobulin genes (axis 1) or the cRel factor of the NF- $\kappa$ B pathway (axis 2). Whatever the targeted gene, two innovative methods will be used to force the exon skipping: i) administration of small molecules called antisense oligonucleotides (AON) to modify splicing of pre-mRNA, and ii) the use of CRISPR / Cas9 technology (an powerful mutagenesis technique) to mutate the splice sites.

**Expected results:** The "Lympho-Skip" research project is expected to have a major impact in basic and public health research in the treatment of lymphoproliferative syndromes, while emphasizing the valorisation of innovative therapeutic exon skipping strategies.

**Bibliographical references:** Chemin G et al, J Immunol / 184 (2010) 5009-5017; Tinguely A et al., Mol Cell Biol / 32 (2012) 107-17; Srour N et al. J Exp Med, 213 (2016): 109-22; Delpy et al, Patent n°PCT/EP2016/078475): «UTILISATION D'OLIGONUCLEOTIDES ANTISENS POUR PRODUIRE DES IG TRONQUEES PAR SAUT D'EXON POUR LE TRAITEMENT DE MALADIES IMPLIQUANT DES CELLULES DE LA LIGNEE B. »