

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ECOLE DOCTORALE N° 637

Sciences de la Vie et de la Santé

Spécialité : *Biologie cellulaire, Biologie du développement*

Par

Van Trang DINH

Décryptage et exploitation comme cible thérapeutique du mécanisme permettant la furtivité au système immunitaire de l'oncovirus d'Epstein-Barr

La protéine EBNA1 d'EBV se lie aux rG4s de son propre ARNm contrôlant ainsi son expression et son échappement au système immunitaire

Thèse présentée et soutenue à Brest, le 25 octobre 2024

Unité de recherche : Inserm UMR 1078 – Génétique, Génomique fonctionnelle & Biotechnologies

Rapporteurs avant soutenance :

Stefania MILLEVOI Directrice de Recherche Inserm, Centre de Recherches en Cancérologie, Toulouse
Carole SAINTOME Maître de Conférences, CNRS UMR 7196, Inserm U1154, Paris

Composition du Jury :

Président :	Laurent CORCOS	Directeur de Recherche Inserm, Inserm UMR 1078, Brest
Examineurs :	Stefania MILLEVOI	Directrice de Recherche Inserm, CRC, Toulouse
	Carole SAINTOME	Maître de Conférences, CNRS UMR 7196, Inserm U1154, Paris
	Rozenn LE BERRE	Professeure, CHRU Brest, Inserm UMR 1078, Brest
	Rodrigo PRADO MARTINS	Chargé de Recherche INRAe Val de Loire, UMR 1282 ISP, Nouzilly
Dir. de thèse :	Marc BLONDEL	Professeur, Inserm UMR 1078, Brest

Titre : Décryptage et exploitation comme cible thérapeutique du mécanisme permettant la furtivité au système immunitaire de l'oncovirus d'Epstein-Barr

Mots clés : EBV, EBNA1, G-quadruplex, NCL, RGG motifs, PRMTs

Résumé : Le virus Epstein-Barr (EBV) infecte environ 90 % de la population et est responsable d'au moins 1% des cancers dans le monde. EBV est un virus latent qui échappe au système immunitaire. Cependant, il possède un talon d'Achille : sa protéine EBNA1 (*Epstein-Barr Nuclear Antigen 1*). En effet, EBNA1 est essentielle à la réplication ainsi qu'à la maintenance du génome viral, mais également très antigénique et les individus infectés par EBV contiennent des lymphocytes T CD8⁺ dirigés contre EBNA1. Ainsi, EBV a développé un mécanisme pour limiter l'expression de la protéine EBNA1 au niveau minimum nécessaire pour assurer sa fonction essentielle pour le virus, tout en limitant sa présentation antigénique, ce qui permet au virus d'échapper au système immunitaire. Les travaux précédents de l'équipe ont montré que la nucléoline (NCL), une protéine

de la cellule hôte, interagit, *via* son motif RGG, avec les G-quadruplexes (rG4s) de l'ARNm d'EBNA1 pour limiter la traduction de ce dernier, minimisant ainsi l'expression de la protéine EBNA1. La protéine EBNA1 contient elle aussi des motifs RGG et nous montrons que ces motifs RGG sont également capables d'interagir avec les rG4s de son propre ARNm, contribuant ainsi à l'inhibition de sa traduction. De plus, un rôle coopératif entre EBNA1 et NCL pour leur capacité à se lier aux rG4s de l'ARNm d'EBNA1, en accord avec leur capacité d'interaction, a été observé. Ainsi, l'interaction entre les protéines EBNA1 et NCL ainsi que celle entre ces deux protéines et les rG4s de l'ARNm d'EBNA1 sont des cibles thérapeutiques pertinentes pour dévoiler au système immunitaire les cancers liés à EBV.

Title: Deciphering and exploiting as a therapeutic target of the mechanism that allows the immune evasion of the Epstein-Barr oncovirus

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

Abstract: The Epstein-Barr virus (EBV) infects about 90% of the population and is responsible for at least 1% of cancers worldwide. EBV is latent and evades the immune system, but has an Achilles heel: its EBNA1 (*Epstein-Barr Nuclear Antigen 1*) protein. Indeed, EBNA1 is essential for EBV genome replication and maintenance, but also highly antigenic, thus inducing the production of CD8⁺ T cells raised against EBNA1 epitopes in EBV-infected individuals. Hence, EBV has evolved a system to limit EBNA1 expression to the minimal level necessary for its function while minimizing immune recognition, therefore allowing the immune evasion of EBV. Previous works of our team have shown that nucleolin (NCL), a host cell protein, interacts,

via its RGG motif, with G-quadruplexes (rG4s) of EBNA1 mRNA, thereby limiting EBNA1 mRNA translation. The EBNA1 protein also contains RGG motifs and here, we show that they also play a crucial role in EBNA1 translation inhibition via a direct interaction with the rG4s of EBNA1 mRNA. Moreover, an interaction and a cooperative role between EBNA1 and NCL proteins in their ability to bind to rG4s of EBNA1 mRNA, consistent with their ability to interact, was observed. Therefore, the interactions between EBNA1 and NCL proteins and between each of these two proteins and the rG4s of EBNA1 mRNA are relevant therapeutic targets to trigger an immune response against EBV carrying cancers.