

**FORMULAIRE STAGE Recherche-M2 BBSG**  
**(période de stage: du 5 janvier 2016 au 3 juillet 2016)**

**Titre du stage :** Etude des séquences *enhancer* dérégulées dans les leucémies

**Laboratoire (intitulé, adresse, site web) :** Technological Advances for Genomics and Clinics (TAGC)  
INSERM U1090, 163, Avenue de Luminy,  
13288 MARSEILLE cedex 09. France  
Bâtiment INSERM, bloc 5, Campus de Luminy  
<http://tagc.univ-mrs.fr/tagc/index.php/research/developmental-networks/s-spicuglia>

**Equipe :** Génomique fonctionnelle de la différenciation des lymphocytes T

**Maitre de stage :** Salvatore Spicuglia

**E-mail :** [salvatore.spicuglia@inserm.fr](mailto:salvatore.spicuglia@inserm.fr)

**Téléphone :** 04 91 82 87 17

**Introduction :** La perte de gènes suppresseurs de tumeur ou l'activation de gènes oncogènes sont généralement étudiées dans le cadre de mutations somatiques affectant la séquence codante ou la méthylation du promoteur d'un gène. Cependant, la régulation spécifique d'un type cellulaire requière l'activation de promoteurs par des éléments génomiques distaux définis comme des « *enhancers* ». Le dysfonctionnement de ces *enhancers* via des mutations directes ou touchant les facteurs de régulation constitue un troisième mécanisme majeur émergent impliqué dans la dérégulation de l'expression de gènes oncogènes clefs. Nous avons développé une stratégie haut-débit innovante appelée CapStarr-seq permettant d'évaluer l'activité des *enhancers* de façon quantitative chez les mammifères. Nous avons démontré l'efficacité de notre technique dans le cadre de la différenciation des lymphocytes T. Notre projet vise à combiner les données épigénomiques de masse que nous avons générées dans le cadre du consortium européen *Blueprint* et les données quantitatives issues du CapStarr-seq. Notre but est donc d'identifier et caractériser les *enhancers* dérégulés dans la leucémie lymphoblastique aigüe de type T (LAL-T) et potentiellement impliqués dans le développement des leucémies. Nous voulons ainsi mettre à profit notre expertise multidisciplinaire dans les domaines de l'épigénomique, la bioinformatique et la régulation des gènes dans la différenciation T et les leucémies. Nos résultats permettraient d'ouvrir la voie aux études fonctionnelles des *enhancers* « pathologiques » impliqués dans la leucémie des cellules T. L'identification de ces *enhancers* représenterait une nouvelle ressource inexplorée de biomarqueurs et cibles thérapeutiques.

**Descriptif du stage :** Le sujet de stage comporte une partie d'analyse bioinformatique et une partie de validation/exploration expérimentale.

**Volet bioinformatique:** l'étudiant analysera des données épigénomiques (notamment CHIP-seq à partir des modifications d'histones) et de données issues de l'approche CapStarr-seq afin d'isoler les régions *enhancers* dérégulées dans les leucémies.

**Volet expérimentale:** Cette partie visera, d'une part, à valider expérimentalement l'activité « *enhancer* » des régions identifiées grâce à des approches de « *gene reporter* » et, d'autre part, à établir la fonction de ces *enhancers* grâce à leurs inactivation au niveau des lignées leucémiques modèles (techniques de *silencing* TALEN ou CRISPr).

Le sujet de stage pourra s'adapter en fonction des centres d'intérêt et des compétences du candidat (ex : bioinformatique, expérimentale, ou les deux).

**Publications récentes liées au sujet de stage:**

1. Vanhille L., A. Griffon, M.A. Maqbool, J. Zacarias, L.T.M. Dao, N. Fernandez, B. Ballester, J.C. Andrau, **S. Spicuglia (2015)**. *CapStarr-seq: a high-throughput method for quantitative assessment of enhancer activity in mammals*. Nature Communication. 6:6905.
2. J. Zacarías-Cabeza, M. Belhocine, L. Vanhille, P. Cauchy, F. Koch, A. Pekowska, R. Fenouil, A. Bergon, M. Gut, I. Gut, D. Eick, J. Imbert, P. Ferrier, J.C. Andrau and **S. Spicuglia (2015)**. *Transcription dependent generation of a specialized chromatin structure at the TCRb locus*. J. Immunol. 194(7):3432-43.
3. Dadi S, S Le Noir, D Payet-Bornet L Lhermitte, J Zacarias-Cabeza, J Bergeron, P Villarèse, E Vachez, A. Dik, C Millien, I Radford, E Verhoeyen, F Cosset, A Petit, N Ifrah, Dombret, O Hermine, **S Spicuglia**, A. W. Langerak, E A. Macintyre, Nadel, P Ferrier, and V Asnafi (**2012**). *TLX homeodomain oncogenes mediate T-cell maturation arrest in T-ALL via interaction with ETS1 and suppression of TCRA gene expression*. Cancer Cell. 17;21(4):563-76
4. Pekowska A, Benoukraf T, Zacarias-Cabeza J, Belhocine M, Koch F, Holota H, Imbert J, Andrau J.C, Ferrier P and **Spicuglia S (2011)**. *H3K4 tri-methylation provides an epigenetic signature of active enhancers*. EMBO J., 30, 4198–10.