

## **Buts et plan du travail**

Les RhoGTPases, par leur rôle dans l'organisation dynamique du cytosquelette, interviennent dans de nombreuses fonctions cellulaires telles que l'adhésion, la contractilité, la migration et la prolifération. Elles participent également à la régulation de l'activité transcriptionnelle. Des altérations de ces différentes fonctions sont largement impliquées dans la progression tumorale. Par ailleurs, de nombreuses études montrent que les RhoGTPases et notamment RhoA, RhoC, Rac1 et Cdc42 sont surexprimées dans les tissus tumoraux, surexpression souvent en relation avec le caractère invasif des tumeurs (Sahai *et al.* 2002; Ridley 2004; Vega *et al.* 2008). Les RhoGTPases représentent donc une cible thérapeutique anticancéreuse potentielle (Fritz *et al.* 2006). Nos travaux visent à préciser le rôle de différentes protéines de la famille Rho dans les fonctions cellulaires impliquées dans la croissance tumorale. Afin d'évaluer la contribution individuelle d'une RhoGTPase donnée faisant partie d'une famille de molécules présentant des homologies de séquence très élevées, la technique des petits ARN interférentiels nous a paru répondre aux exigences de spécificité requises. La première approche, réalisée *in vitro*, a visé à établir le rôle des RhoGTPases dans les fonctions cellulaires pertinentes aux propriétés des cellules tumorales. La seconde approche s'est adressée à l'utilisation des petits ARN interférentiels dans des modèles tumoraux *in vivo*.

La première partie de ce travail a été consacrée à la validation des siRNA comme outils biologiques performants. Ce volet, entamé lors de notre mémoire de DEA et finalisé au cours des premiers mois de nos

travaux de doctorat, a confirmé le rôle des RhoGTPases Cdc42 et Rac1 dans les fonctions mécaniques des fibroblastes humains, telles que la contractilité et la migration, par l'intermédiaire de la modulation de l'organisation du cytosquelette. Ce chapitre a également mis en évidence le rôle différentiel de RhoA et RhoC, deux RhoGTPases délicates à étudier individuellement étant donné leur homologie de séquence élevée, dans la régulation des propriétés migratoires des fibroblastes humains notamment. Plusieurs siRNA ciblant une même RhoGTPase ont été utilisés en vue de valider nos données. Ces résultats supportent l'efficacité et la spécificité des outils biologiques utilisés.

La deuxième partie de nos recherches s'est adressée à l'analyse des mécanismes de régulation des trois protéines de la sous-famille Rho et plus précisément à la régulation de RhoB, suppresseur de tumeurs potentiel, par ses homologues RhoA et RhoC. Ceux-ci contribuent à la croissance tumorale dans différents types cellulaires notamment des cellules d'adénocarcinome mammaire et prostatique. Des expériences de sauvetage du phénotype nous ont permis de valider nos résultats. Cette étude a démontré à nouveau l'intérêt de l'utilisation des siRNAs pour une meilleure compréhension de la régulation fine de ces protéines, concernant notamment le rôle de la forme liée au GDP dite inactive des RhoGTPases.

Le troisième volet de nos études s'est focalisé sur l'analyse du rôle différentiel de RhoA et RhoC dans la croissance tumorale dans un modèle de cellules d'adénocarcinome prostatique. Les analyses transcriptomiques, mettant en évidence la modulation différentielle de l'expression de plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs ainsi que les mécanismes de leur régulation, ont été complétées par des expériences de tumorigenèse *in vitro* et une première approche *in vivo*.