



Deutsche Version (siehe unten)

Version française (ci-dessous)

## Lay Summary

<b>Project title</b>	Single-cell transpo-transcriptome profiling of hematological malignancies – Transposable elements as potential disease biomarkers in hematological malignancies and their implications in disease pathogenesis and physiologic hematopoietic development
<b>Main applicant</b>	Dr. med. Filipe Martins <sup>1,2</sup> , <sup>1</sup> School of Life Sciences, École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), CH-1015 Lausanne, Switzerland <sup>2</sup> Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV), Service et laboratoire central d'hématologie, département d'oncologie, rue du Bugnon 46, CH-1011 Lausanne, Switzerland
<b>Consortium</b>	EPFL Lausanne, Hôpitaux universitaires de Genève (HUG), Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV)
<b>Short Summary</b>	Technical advances in high-throughput RNA sequencing will allow new approaches towards hematological malignancy monitoring. Transposable elements (TE) integrants account for about 50% of human genome DNA content. Their differential expression allows the detection of tissue-specific signatures. However, several considerations are required to design sensitive and specific detection methods based on TEs expression profile. A first step is the calibration of the sequencing technique across selected healthy human circulating blood cells. In addition, TEs display the ability to act as regulators of gene expression, by conferring binding sites for transcription factors (TF). Transcriptional oncogenic drivers using TEs cis-regulatory networks across different cancer types is highly suspected. The exploration of regulatory networks conferred by TEs in hematopoietic development and disease progression is of valuable interest in the era of epigenetic treatments.
<b>Background</b>	Minimal residual disease detection (MRD) methods and cancer patient's stratification according to epigenetic profiling, going beyond current histopathological classifications, are major goals of modern personalized oncology. DNA next-generation sequencing (NGS) and RT-qPCR methods are implemented in the clinic and proved to have a positive impact on early detection of hematological malignancies. In addition, the identification of disease regulatory networks and oncogenic drivers will enrich the repertoire of therapeutic targets and cancer knowledge. Malignancies are regulated by complex transcriptional networks, driven by oncogenic TFs interacting at multiple cis-acting genomic sequences. A fraction of TE integrants serve as regulatory elements of nearby genes, thus shaping the transcriptomic profile of cancer cells but also their normal physiological counterparts in a tissue-specific manner.
<b>Goal</b>	We are going to perform serial high-throughput RNA sequencing on sorted white blood cell subtypes from buffy coats issued from healthy



	<p>donors. This will allow us to define the required sequencing depth to obtain informative expression signatures across individuals. In a second phase, we are going to confront the data issued from bulk and single-cell RNA sequencing to ascertain the cell-type origin of the detected signal. In parallel, we are building a collaboration with university hospitals to explore the ability of high-throughput RNA sequencing to serve as a disease monitoring tool in stem cell transplant recipients at risk of graft-versus host disease (GVHD).</p> <p>Our aim is also to characterize epigenetic regulatory networks used by TFs displaying TEs binding patterns throughout the human genome and more specifically oncogenic TFs. We are exploring oncogenic TF-TEs associations by challenging putative regulatory systems, through gene editing and transduction experiments on lymphoblastoid, leukemia and lymphoma cell-lines.</p>
<b>Significance</b>	<p>In the era of personalized oncology, the exploration of new methods of disease monitoring and biological predictors of disease and treatment outcome are essential. High-throughput RNA sequencing exploring TEs expression profile offers a new approach to detect disease-specific signatures. A proof of principle regarding their analytical sensitivity and specificity to efficiently discriminate individuals in an optimized fashion is still lacking.</p> <p>In addition, targeting the noncoding genome is one of the new milestones of cancer research. The identification of regulatory mechanisms of gene expression will increase our understanding of cancer epigenetics but also point out new therapeutic targets.</p>

**Deutsch**

<b>Projekttitle</b>	Transpo-transkriptomisches Profiling von malignen hämatologischen Erkrankungen – Transposons als potenzielle Krankheits-Biomarker bei malignen hämatologischen Erkrankungen und ihre Auswirkungen auf die Krankheitsentstehung und die physiologische hämatopoetische Entwicklung.
<b>Hauptgesuchssteller</b>	Dr. med. Filipe Martins <sup>1,2</sup> , <sup>1</sup> School of Life Sciences, École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), CH-1015 Lausanne, Switzerland <sup>2</sup> Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV), Service et laboratoire central d'hématologie, département d'oncologie, rue du Bugnon 46, CH-1011 Lausanne, Switzerland
<b>Consortium</b>	EPFL Lausanne, Hôpitaux universitaires de Genève (HUG), Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV)
<b>Kurzzusammenfassung</b>	<p>Die technischen Fortschritte bei der High-Throughput-RNA-Sequenzierung werden neue Ansätze zur Überwachung maligner hämatologischer Krankheiten ermöglichen. Transposone (transposable elements, TE) machen ungefähr 50% der DNA eines menschlichen Genoms aus. Ihre differentielle Expression ermöglicht den Nachweis von gewebsspezifischen Signaturen. Allerdings sind mehrere Faktoren zu berücksichtigen, um empfindliche und spezifische Detektionsmethoden basierend auf dem Expressionsprofil von TE zu entwickeln. Dies betrifft in einem ersten Schritt die Kalibrierung der Sequenzierungstechnik an ausgewählten gesunden, zirkulierenden, menschlichen Blutzellen.</p> <p>Darüber hinaus haben TEs die Fähigkeit, als regulatorische Elemente der Genexpression zu fungieren und Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren (TFs) zu vergeben. Die Beteiligung von TEs an der epigenetischen cis-Regulation verschiedener Krebsarten wird stark vermutet. Die Erforschung von regulatorischen Netzwerken, die von TEs in der hämatopoetischen Entwicklung verliehen werden, wie auch das Fortschreiten von daraus abgeleiteten Neoplasien ist in der Ära von epigenetischen Behandlungen von grosser Bedeutung.</p>
<b>Hintergrund</b>	Die Nachweismethoden für die minimale Resterkrankung (MRD) und die Stratifizierung von Onkologiepatienten gemäss dem epigenetischen Profiling ihrer Erkrankung, das über die aktuellen histopathologischen Klassifizierungen hinausgeht, sind wesentliche Ziele der modernen personalisierten Onkologie. DNA Next Generation Sequencing (NGS) und RT-qPCR Methoden wurden klinisch umgesetzt und haben sich bei der Früherkennung von bösartigen Blutkrankheiten bewährt. Darüber hinaus wird die Identifizierung von regulatorischen Netzwerken, die von onkogenen Transkriptionsfaktoren genutzt werden, das Repertoire an potenziellen therapeutischen Zielen und unser Wissen über Krebs erweitern. Neoplasien werden durch komplexe transkriptionelle Netzwerke reguliert. Ein Bruchteil der TE-Integrianten dient als regulatorische Elemente für benachbarte Gene und prägt so das transkriptomische Profil von Krebszellen, aber auch deren physiologische Gegenstücke.



<b>Ziel</b>	<p>Wir werden eine Reihe von High-Throughput-RNA-Sequenzierungen an Leukozyten-Subtypen durchführen, die aus Buffy Coats von gesunden Spendern sortiert wurden. Dies wird es uns ermöglichen, die Tiefe der Sequenzierung zu definieren, die erforderlich ist, um informative Expressionssignaturen zwischen verschiedenen Individuen zu erhalten. In einer zweiten Phase werden wir die Daten aus der Massen- und Einzelzell-RNA-Sequenzierung vergleichen, um die zelluläre Herkunft des erfassten Ergebnisses zu bestimmen. Gleichzeitig werden wir gemeinsam mit Universitätskliniken die Fähigkeit der High-Throughput-RNA-Sequenzierung als Überwachungsinstrument für Patienten, die eine Blutstammzelltransplantation erhalten, hinsichtlich des Risikos für eine Spender-gegen-Empfänger-Reaktion (Graft-versus-Host-Disease, GvHD) untersuchen. Unser Ziel ist es ferner, die epigenetischen regulatorischen Netzwerke zu charakterisieren, die von TFs mit TE-Bindungsstellen im menschlichen Genom und insbesondere von onkogenen TFs verwendet werden. Wir werden TF-TE-Verbindungen untersuchen, indem wir mutmassliche Regulationssysteme durch Genmanipulationsexperimente an lymphoiden, leukämischen und lymphomatischen Zelllinien modulieren.</p>
<b>Bedeutung</b>	<p>In Zeiten der personalisierten Onkologie ist die Erforschung neuer Methoden zur Krankheitsüberwachung und von biologischen Prädiktoren für Krankheiten und Behandlungsergebnissen unerlässlich. High-Throughput-RNA-Sequenzierung zur Erforschung von TE-Expressionsprofilen bietet einen neuen Ansatz zur Erkennung krankheitsspezifischer Signaturen/Merkmalen. Ein grundsätzlicher Nachweis bezüglich der analytischen Sensitivität und Spezifität, um Individuen effizient und optimal zu unterscheiden, fehlt allerdings immer noch. Zusätzlich ist die Ausrichtung auf nichtkodierte Genome einer der Meilensteine der Krebsforschung. Die Identifizierung von neuen Mechanismen zur Regulation der Genexpression wird unser Verständnis der Krebsgenetik verbessern und neue Therapieziele aufzeigen.</p>

**Français**

<b>Titre du projet</b>	Le profilage transpo-transcriptomique des hémopathies malignes – Les éléments transposables en tant que biomarqueurs dans les hémopathies malignes et leurs implications dans la pathogenèse des hémopathies malignes et le développement hématopoïétique physiologique
<b>Requérant principal</b>	Dr. med. Filipe Martins <sup>1,2</sup> , <sup>1</sup> School of Life Sciences, École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), CH-1015 Lausanne, Switzerland <sup>2</sup> Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV), Service et laboratoire central d'hématologie, département d'oncologie, rue du Bugnon 46, CH-1011 Lausanne, Switzerland
<b>Consortium</b>	EPFL Lausanne, Hôpitaux universitaires de Genève (HUG), Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV)
<b>Résumé</b>	Les progrès techniques en matière de séquençage d'ARN à haut débit permettront de nouvelles approches en matière de surveillance des hémopathies malignes. Les intégrants d'éléments transposables (TE) représentent environ 50% du contenu en ADN du génome humain. Leur expression différentielle permet la détection de signatures spécifiques aux tissus. Cependant, plusieurs considérations sont nécessaires pour concevoir des méthodes de détection sensibles et spécifiques basées sur le profil d'expression des TE. Une première étape consiste à étalonner la technique de séquençage sur des cellules sanguines circulantes saines sélectionnées. De plus, les TE présentent la capacité d'agir en tant qu'éléments régulateurs de l'expression génique, en conférant des sites de liaison pour des facteurs de transcription (TF). L'implication des TE dans la régulation épigénétique de différents types de cancer est fortement suspectée. L'exploration de réseaux de régulation conférés par les TE dans le développement hématopoïétique et la progression des néoplasies qui en dérivent présente un grand intérêt à l'ère des traitements épigénétiques.
<b>Context</b>	Les méthodes de détection des maladies résiduelles (MRD) et la stratification des patients oncologiques en fonction du profil épigénétique de leur maladie, allant au-delà des classifications histopathologiques actuelles, sont des objectifs majeurs de l'oncologie personnalisée moderne. Les méthodes de séquençage de nouvelle génération (NGS) et de RT-qPCR ont été mises en œuvre en clinique et se sont avérées efficaces pour la détection précoce des hémopathies malignes. En outre, l'identification de réseaux de régulation utilisés par des facteurs de transcription oncogéniques enrichira le répertoire des cibles thérapeutiques potentielles et nos connaissances sur le cancer. Les néoplasies sont régulées par des réseaux transcriptionnels complexes. Une fraction des intégrants TE sert d'éléments régulateurs de gènes voisins, façonnant ainsi le profil transcriptomique des cellules cancéreuses, mais également leurs homologues physiologiques.



<b>But</b>	<p>Nous allons effectuer une série de séquençage d'ARN à haut débit sur des sous-types de leucocytes triés à partir de buffy coats provenant de donneurs sains. Cela nous permettra de définir la profondeur de séquençage requise pour obtenir des signatures d'expression informatives entre différents individus. Dans une seconde phase, nous allons confronter les données issues du séquençage en masse et de l'ARN monocellulaire pour déterminer l'origine du signal détecté. Parallèlement, nous collaborerons avec les hôpitaux universitaires pour explorer la capacité du séquençage d'ARN à haut débit à servir d'outil de surveillance chez les patients receveurs de greffes de cellules souches hématopoïétiques à risque de maladie du greffon contre l'hôte (GVHD).</p> <p>Notre objectif est également de caractériser les réseaux de régulation épigénétiques utilisés par les TF présentant des sites de liaison aux TE dans le génome humain et plus spécifiquement ceux utilisés par des TF oncogéniques. Nous explorerons les associations TF-TE en modulant des systèmes de régulation putatifs, grâce à des expériences de manipulation génique sur des lignées cellulaires lymphoïdes, leucémiques et lymphomateuses.</p>
<b>Importance</b>	<p>À l'ère de l'oncologie personnalisée, le séquençage d'ARN à haut débit explorant le profil d'expression des TE offre une nouvelle approche pour détecter des signatures spécifiques aux maladies onco-hématologiques. Une preuve de principe concernant sa sensibilité et spécificité analytique dans ce type de détection fait encore défaut.</p> <p>De plus, le ciblage du génome non codant est l'un des nouveaux jalons de la recherche sur le cancer. L'identification de nouveaux mécanismes régulant l'expression génique augmentera notre compréhension de l'épigénétique du cancer et permettra de découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques.</p>