

## LABEX DYNAMO

**Unité :** FRE3354, Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire des Eucaryotes »

**Directeur de thèse :** Lionel Benard (CR1 CNRS, HDR)

**Equipe :** Métabolisme de l'ARN (Responsable : Lionel Benard)

**Titre de la thèse :** « Contrôle par la ribonucléase Xrn1 d'interactions ARN-ARN affectant la fonction mitochondriale chez *Saccharomyces cerevisiae* »

### Résumé du projet :

L'exoribonucléase Xrn1 est une ribonucléase très conservée chez les eucaryotes qui engendre, lorsque son activité fait défaut, des effets pléiotropiques qui sont étudiés dans le laboratoire. Nous avons démontré que l'activité de l'exoribonucléase 5'-3' dans le cytoplasme est importante pour la production de facteurs importants pour la respiration (Atp1, Atp2, Por1, *etc.*) et affecte la morphologie mitochondriale (Sinturel *et al.*, 2012). La porine mitochondriale Por1 a été identifiée comme un facteur significativement sensible aux variations de l'activité de Xrn1 (Sinturel *et al.*, 2012). De manière remarquable, la quantité de Por1 diminue dans le contexte *xrn1Δ* alors que celle de l'ARNm *POR1* reste inchangée, suggérant alors un niveau de régulation post-transcriptionnel dont nous voulons déterminer les mécanismes. Selon la littérature actuelle, une classe d'ARN non codants (ARNnc) nommés XUT, stabilisés en l'absence de Xrn1, pourrait participer à cette régulation (van Dijk *et al.*, 2011). Certains de ces ARNnc, placés en antisens de phase ouverte de lecture et chevauchant la région promotrice contrôlent la transcription. L'existence d'ARNnc stabilisés dans le contexte *xrn1Δ* n'a pas pu être mise en évidence à proximité de notre gène d'intérêt *POR1*. Les mécanismes en jeu seront donc de toute évidence originaux d'autant plus que nous avons affaire à un contrôle post-transcriptionnel qui n'est pas décrit chez la levure.

Un ARN partiellement antisens de l'ARNm *POR1* est toutefois détectable et s'accumule fortement en l'absence de Xrn1. Il s'agit de l'ARNm correspondant au gène *OCA2*, gène dont la transcription est convergente à celle du gène *POR1*. Il existe donc en fait un ARN antisens au transcrit *POR1*, qui tel un ARNnc XUT s'accumule en l'absence de Xrn1, mais cet ARN est un ARNm. Nos résultats non publiés démontrent que la production de protéine Por1 est sensible à la surexpression en *trans* de l'ARNm *OCA2*, ainsi qu'à la surexpression en *trans* de la seule partie non-codante 3'-UTR de *OCA2* qui est complémentaire de celle de l'ARNm *POR1*. Dans le contexte *xrn1Δ*, nous vérifions que la répression de *POR1* est la plus forte. Il est indubitable que l'absence de Xrn1 rend l'ARNm *OCA2* plus effectif dans cette répression. Cela nous a incités à étudier l'impact que peut avoir Xrn1 sur la nature de ces ARNm.

Nous observons dans le mutant *xrn1* que l'ARNm *OCA2* est fortement stabilisé sous la forme d'un ARNm 5'-P. Cet ARNm n'est plus fonctionnel pour la traduction car il est attendu qu'un ARNm possède une structure coiffée (m7GpppN) en 5' et une séquence polyadénylée en 3' qui assurent en synergie une traduction efficace. En revanche l'ARNm *POR1* reste coiffé dans ce contexte, mais ne semble pas permettre la production de protéine Por1. Nous avons donc débuté l'analyse de la séquence polyadénylée en 3' de l'ARNm *POR1*. Nos travaux en cours suggèrent que la forte accumulation de l'ARN *OCA2*, et *a priori* les interactions ARN-ARN qu'elle engendre en 3' avec l'ARNm *POR1*, produit en fait une forte déadénylation de l'ARN *POR1*, limitant sa traduction.

Nous voulons en premier lieu valider ce modèle de contrôle traductionnel original et en parallèle démontrer que ce modèle est généralisable au contrôle de l'expression d'autres gènes. Nous avons donc débuté l'analyse de plusieurs autres gènes candidats dont les protéines correspondantes sont peu abondantes dans le contexte où Xrn1 est absente. Ces gènes s'avèrent placés de manière convergente à d'autres gènes, produisant potentiellement des ARN chevauchants et complémentaires par leurs extrémités 3'. A cet égard, les banques de données de séquençage à haut débit valident que cette configuration existerait pour plus d'un millier d'ARNm chez *S. cerevisiae*. Il existerait donc une fonction insoupçonnée de Xrn1 assurant le contrôle d'interactions ARN-ARN afin de limiter la mise en place de régulations traductionnelles délétères pour la cellule. Notre objectif est aussi d'en comprendre les mécanismes et de caractériser les facteurs par lesquels ces interactions ARN-ARN aboutissent à cette régulation post-transcriptionnelle inattendue chez *S. cerevisiae*.

Sinturel F, Bréchemier-Baey D, Kiledjian M, Condon C, Bénard L. Activation of 5'-3' exoribonuclease Xrn1 by cofactor Dcs1 is essential for mitochondrial function in yeast. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109 (21) : 8264-9.

van Dijk EL, Chen CL, d'Aubenton-Carafa Y, Gourvennec S, Kwapisz M, Roche V, Bertrand C, Silvain M, Legoix-Né P, Loeillet S, Nicolas A, Thermes C, Morillon A. XUTs are a class of Xrn1-sensitive antisense regulatory non-coding RNA in yeast. *Nature*. 2011 ; 475 (7354) : 114-7.