



SFBBM
Société Française de Biochimie et Biologie Moléculaire

L'actualité de la Société Française
de Biochimie et Biologie Moléculaire

news

**Articles
scientifiques**
Fission mitochondriale
Covid 19
Les ARNm

#1

sept. 2020

Congrès Annuel de la **SFBBM**

Paris
27/28
mai 2021

**La SFBBM,
AVEC vous ET
POUR VOUS**

Cher(e)s
collègues
et ami(e)s,

Je suis très heureux de vous annoncer que « Regard sur la Biochimie », le bulletin de liaison de la SFBBM né en 1974, vient de faire peau-neuve dans un tout nouveau format, sous le nom de « SFBBM-News ».

A l'initiative d'Alain Krol, Rédacteur-en-Chef de la publication et Secrétaire Général de notre Société, « SFBBM-News » se veut désormais un média moderne de communication à destination des membres de la Société. Vous délivrant les informations essentielles de la SFBBM, de manière synthétique et à une fréquence de deux à trois numéros par an, ce média s'inscrira en complément idéal des autres médias mis à votre disposition (site internet, twitter, facebook). Le cas échéant, des communications scientifiques y seront publiées, comme c'est d'ailleurs le cas dans ce

tout premier numéro incluant trois articles rédigés par des étudiants M1 de la Graduate School IMCBio (Integrative Molecular and Cellular Biology) de Strasbourg. Je vous laisse découvrir, sans plus attendre, cette première édition de « SFBBM-News » et vous en souhaite une excellente lecture !

Très cordialement,



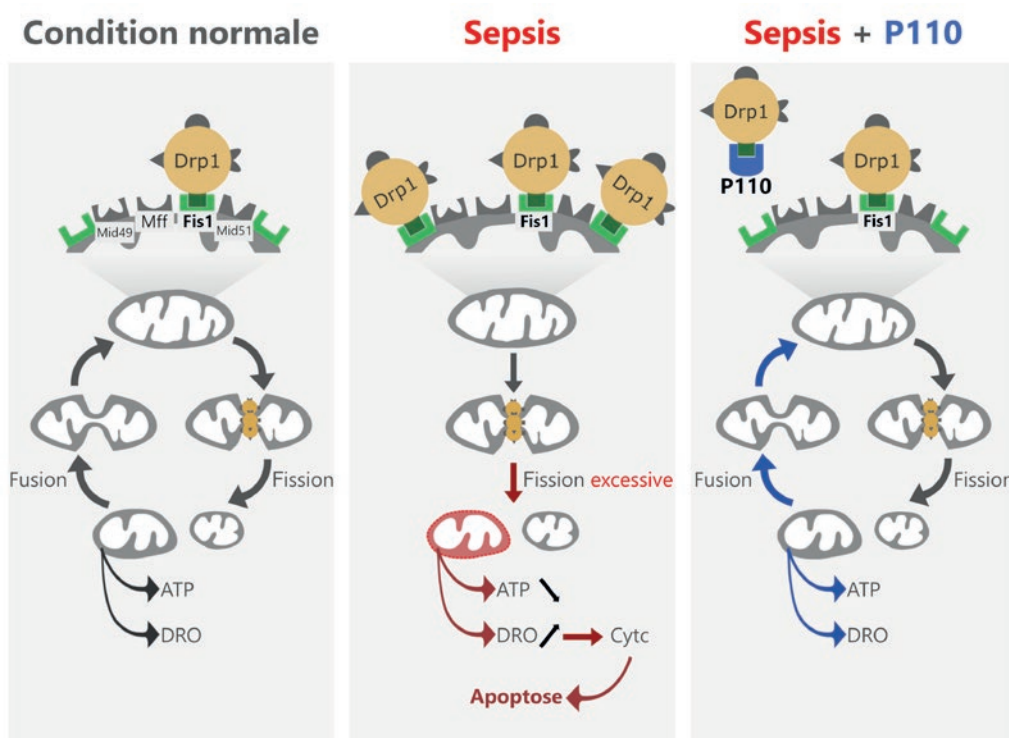
Dominique Legrand
Président de la SFBBM

La fission mitochondriale

comme nouvelle cible thérapeutique contre les cardiomyopathies septiques

Le sepsis est défini comme un dysfonctionnement d'organe secondaire à une réponse inappropriée de l'hôte envers une infection (1). Le sepsis est un syndrome engendrant des dommages sanitaires et économiques importants, responsable de 48,9 millions de cas et lié à 11 millions de décès correspondant à 20% des morts dans le monde en 2017 (2). Les connaissances actuelles du sepsis montrent que cette pathologie est liée à une rapide production de signaux pro- et anti-inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-6 sur le lieu de l'infection, ainsi qu'à l'activation aberrante du système du complément, résultant en une coagulation sanguine excessive et dangereuse pour le patient (3).

La mortalité due au sepsis atteint 30% et augmente jusqu'à 70%-90% lorsque celui-ci touche le cœur, provoquant une cardiomyopathie septique (CMS) (4). Aucun traitement efficace n'existe à ce jour contre les CMS et c'est pour cela que les événements menant à cette pathologie sont largement étudiés. Une des caractéristiques des CMS est la dégénérescence des cardiomyocytes (4), des cellules musculaires qui nécessitent de l'énergie produite par hydrolyse de l'ATP afin d'assurer les contractions cardiaques (5). Les mitochondries produisent 95% de l'ATP et constituent environ 30% du volume des cardiomyocytes



(5, 6). Les mitochondries sont des organites dynamiques à double membrane capables de changer leur morphologie de par leur capacité de fusion et fission permettant d'adapter la réponse cellulaire face à divers stress (7). Outre la production d'énergie sous forme d'ATP via la phosphorylation oxydative (OXPHOS), les mitochondries sont responsables de la production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) dont la quantité est augmentée en conditions de stress (6). Il a été démontré que lors d'une CMS, la morphologie et le fonctionnement mitochondriaux sont perturbés et conduisent à des défauts de OXPHOS et à l'accumulation des DRO. La production de DRO accrue induit la peroxydation de cardiolipines, un constituant de la membrane interne mitochondriale (8). Cette modification conduit au relargage de cytochrome c, et ainsi à l'activation de la voie intrinsèque de l'apoptose (mort cellulaire programmée), menant à l'élimination des cardiomyocytes.

Un des mécanismes récemment identifiés comme facteur accroissant la production des DRO ainsi que le dysfonctionnement mitochondrial chez les cardiomyocytes, est la fission excessive des mitochondries. Cette dernière est régulée par la GTPase *dynamamin-related protein 1* (Drp1) cytosolique qui interagit avec les adaptateurs de la membrane mitochondriale externe Fis1, Mff, Mid49 et Mid51 (Figure 1) (9). De nombreuses équipes explorent cette voie comme stratégie thérapeutique potentielle, dont l'équipe de Dr. Daria Mochly-Rosen à l'Université de Stanford. L'équipe vise à

Figure 1. Dans les cardiomyocytes sains, la fission et la fusion mitochondriale étant en équilibre, les mitochondries produisent de l'ATP nécessaire à l'activité contractile de cardiomyocyte et la production des DRO est modérée. Lorsque le cœur d'un patient est atteint d'un sepsis, la fission régulée par l'interaction de Drp1 avec Fis1 devient excessive, les mitochondries sont endommagées et la production des DRO est augmentée. Les mitochondries ne parviennent plus à satisfaire les besoins énergétiques des cardiomyocytes. De plus, l'accumulation des DRO déclenche l'apoptose des cardiomyocytes. Lorsque le peptide P110 est administré, il empêche l'interaction Drp1-Fis1 excessive ce qui restaure l'équilibre de la dynamique mitochondriale.

**BULLETIN DE LIAISON DE
LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE
DE BIOCHIMIE ET DE
BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

Reconnue d'utilité
publique
(décret du 27/4/1933)
45, rue des Saints Pères
75270 Paris cedex 06
Tél. 01 42 86 33 77
Fax 01 42 86 33 73

DIRECTEUR
DE LA PUBLICATION
Dominique Legrand

RÉDACTEUR EN CHEF
Alain Krol

www.sfbbm.fr
sfbbm@sfbbm.fr

développer de nouvelles stratégies de traitement en se basant sur la modulation de la fission mitochondriale. Ils ont notamment développé des peptides inhibant spécifiquement l'interaction entre Drp1 et ses adaptateurs, par exemple P110 inhibant l'interaction Drp1-Fis1 (10) et P259 inhibant l'interaction Drp1-Mff (11). Chacun de ces peptides comporte une séquence similaire au site actif de l'adaptateur permettant leur liaison à une région réceptrice de Drp1. Afin de permettre l'adressage des peptides à l'intérieur de la cellule, le peptide est conjugué à une séquence riche en arginine et lysine. L'inhibition spécifique des interactions entre Drp1 et ces partenaires permet d'étudier le rôle de ces interactions dans de nombreux contextes pathologiques, comme celui de la maladie de Huntington (12) ou de la sclérose latérale amyotrophique (13).

Une publication récente de l'équipe démontre l'augmentation de la fission mitochondriale dépendante de l'interaction spécifique entre Drp1 et Fis1 dans le modèle cellulaire des CMS (8) (Figure 1). L'inhibition de fission par P110 restaure le fonctionnement normal des mitochondries, leur potentiel membranaire, la respiration cellulaire et diminue la production des DRO dans les cardiomyocytes en culture. De plus, le traitement curatif des souris atteintes de CMS avec P110 a conduit à une augmentation de survie de 30%, en diminuant le stress oxydant et la fragmentation mitochondriale. Contrairement au P110, l'inhibition de l'interaction spécifique entre Drp1 et Mff par P259 ne fait qu'augmenter le stress oxydant et la mort des cardiomyocytes. Cette étude démontre qu'il serait possible de contrer la fission excessive Fis1-spécifique afin d'améliorer l'issue des CMS et d'augmenter le taux de survie des patients.

Par ailleurs, d'autres possibilités thérapeutiques basées sur la régulation de la fission peuvent être envisageables quant au traitement contre les CMS. En effet, Tan et al. (14) ont démontré l'effet curatif de l'irisine, une hormone modulant le stress oxydant et le métabolisme lors d'un effort musculaire (15), chez des souris atteintes de CMS. Le traitement à l'irisine conduit à une diminution de la forme phosphorylée active de Drp1, en inhibant la kinase LATS2 en aval de la voie de signalisation Hippo et de la JNK (c-Jun N-terminal kinase). Combiné à la mélatonine, le traitement produit l'effet protecteur sur les mitochondries, particulièrement durant le stress oxydant (16). Ainsi, les études des mécanismes moléculaires de fission mitochondriale peuvent mener à l'élaboration des traitements plus ou moins ciblés et spécifiques pour améliorer l'issue des patients de cette pathologie grave et jusqu'ici incurable.

bibliographie

- (1) Singer, M., Deutschman, C.S., Seymour, C.W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., Bellomo, R., Bernard, G.R., Chiche, J.-D., Cooper-Smith, C.M., et al. (2016). The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 315, 801.
- (2) Rudd, K.E., Johnson, S.C., Agesa, K.M., Shackelford, K.A., Tsoi, D., Kievlan, D.R., Colombari, D.V., Ikuta, K.S., Kissoon, N., Finfer, S., et al. (2020). Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet* 395, 200–211.
- (3) Conway-Morris, A., Wilson, J., and Shankar-Hari, M. (2018). Immune Activation in Sepsis. *Critical Care Clinics* 34, 29–42.
- (4) Lin, H., Wang, W., Lee, M., Meng, Q., and Ren, H. (2020). Current Status of Septic Cardiomyopathy: Basic Science and Clinical Progress. *Front. Pharmacol.* 11, 210.
- (5) Kolwicz, S.C., Purohit, S., and Tian, R. (2013). Cardiac Metabolism and its Interactions With Contraction, Growth, and Survival of Cardiomyocytes. *Circ Res* 113, 603–616.
- (6) Kornfeld, O.S., Hwang, S., Disatnik, M.-H., Chen, C.-H., Qvit, N., and Mochly-Rosen, D. (2015). Mitochondrial Reactive Oxygen Species at the Heart of the Matter: New Therapeutic Approaches for Cardiovascular Diseases. *Circ Res* 116, 1783–1799.
- (7) Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science; 2002. The Mitochondrion. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26894/>
- (8) Haileselassie B, Mukherjee R, Joshi AU, et al. Drp1/Fis1 interaction mediates mitochondrial dysfunction in septic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2019;130:160–169.
- (9) Yu R, Lendahl U, Nistér M, Zhao J. Regulation of Mammalian Mitochondrial Dynamics: Opportunities and Challenges. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:374.
- (10) Qi, X., Qvit, N., Su, Y.-C., and Mochly-Rosen, D. (2013). A novel Drp1 inhibitor diminishes aberrant mitochondrial fission and neurotoxicity. *Journal of Cell Science* 126, 789–802.
- (11) Kornfeld OS, Qvit N, Haileselassie B, Shamloo M, Bernardi P, Mochly-Rosen D. Interaction of mitochondrial fission factor with dynamin related protein 1 governs physiological mitochondrial function in vivo. *Sci Rep*. 2018;8(1):14034.
- (12) Disatnik, M.-H., Joshi, A.U., Saw, N.L., Shamloo, M., Leavitt, B.R., Qi, X., and Mochly-Rosen, D. (2016). Potential biomarkers to follow the progression and treatment response of Huntington's disease. *The Journal of Experimental Medicine* 213, 2655–2669.
- (13) Joshi, A.U., Saw, N.L., Vogel, H., Cunningham, A.D., Shamloo, M., and Mochly-Rosen, D. (2018). Inhibition of Drp1/Fis1 interaction slows progression of amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO Mol Med* 10.
- (14) Tan Y, Ouyang H, Xiao X, Zhong J, Dong M. Irisin ameliorates septic cardiomyopathy via inhibiting DRP1-related mitochondrial fission and normalizing the JNK-LATS2 signaling pathway. *Cell Stress Chaperones*. 2019;24(3):595–608.
- (15) Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1-α-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463–468.
- (16) Ouyang H, Li Q, Zhong J, et al. Combination of melatonin and irisin ameliorates lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction through suppressing the Mst1-JNK pathways [published online ahead of print, 2020 Jan 24]. *J Cell Physiol*. 2020.



**Théo HECQUET
et Darya YANUSHKO**
École Universitaire de
Recherche IMCBio,
Université de Strasbourg

COVID-19

actualités et pistes thérapeutiques

I /

Introduction

La famille des coronavirus comprend des grands virus de mammifères à ARN positif, étant généralement à l'origine de maladies du système respiratoire. Alors que la plupart d'entre eux sont bénins, le monde a déjà connu deux graves épidémies liées à ces pathogènes humains, l'une provenant du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-1) en 2002 et l'autre du coronavirus lié au syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) en 2012. Cependant, le nouveau coronavirus SARS-CoV-2 a un potentiel infectieux

beaucoup plus important qui pourrait s'expliquer par de petites différences génétiques et structurales mais néanmoins importantes. Actuellement, l'une des causes majeures de l'aggravation de l'état des patients hospitalisés suite à une infection par le SARS-CoV-2 est la «tempête de cytokines» déclenchée par une réponse importante et démesurée du système immunitaire. En effet, le système immunitaire, en réponse à l'infection virale, déclenche une réponse inflammatoire très importante, lésant notamment les tissus pulmonaires.

De nombreuses équipes scientifiques se sont ainsi mobilisées très rapidement face à cette pandémie afin de comprendre les bases moléculaires de l'infection virale et de tenter d'établir des protocoles thérapeutiques pour lutter contre une réponse inflammatoire trop importante de l'organisme. Aussi, des avancées récentes sur des possibilités de traitement de la COVID-19 - la maladie causée par SARS-CoV-2, ont été établies grâce, entre autres, à la biologie structurale.

II /

Tempête de cytokines

L'une des stratégies dans la lutte contre la COVID-19 consiste à réduire le phénotype inflammatoire causé par la tempête de cytokines - parmi elles les interleukines IL-6, IL-1 β et le Tumor Necrosis Factor TNF- α - en tentant d'utiliser des molécules déjà disponibles et commercialisées. Des stratégies directes ou indirectes sont possibles.

1/

En agissant sur le virus lui-même, l'administration d'interféron IFN- λ permettrait d'activer la transcription de gènes antiviraux dans les cellules épithéliales du système respiratoire. De plus, il inhibe l'activité pro-inflammatoire des IFN- α et - β (1). Au sein des endosomes des macrophages, l'ARN viral simple brin est reconnu par le TLR7 qui est un *Pattern Recognition Receptor* faisant partie de la famille des récepteurs Toll-like (TLR). Une fois l'ARN reconnu, TLR7 déclenche, via sa protéine adaptatrice MyD88, une voie de signalisation permettant l'activation du facteur de transcription NF- κ B et *in fine* la production de certaines cytokines pro-inflammatoires. L'utilisation de molécules antagonistes de TLR7 permettrait donc de diminuer la production de cytokines pro-inflammatoires.

2/ Réduction de la quantité de cytokines

Afin de lutter contre l'infection virale, les macrophages produisent une quantité très importante de cytokines pro-inflammatoires, telles que IL-6, IL-1 β et TNF- α . Par conséquent, certaines équipes suggèrent d'utiliser des molécules pouvant séquestrer ou neutraliser TNF- α . Concernant IL-1 β , l'administration de l'anakinra a été étudiée (1). Il s'agit d'un antagoniste recombinant du récepteur de IL-1 β , disponible sur le marché depuis 2001. Afin d'inhiber l'action inflammatoire de l'IL-6, des tentatives ont été entreprises avec le tocilizumab, un anticorps monoclonal bloquant le récepteur de cette cytokine. L'avantage de ces traitements est qu'ils sont déjà utilisés dans certaines maladies auto-immunes inflammatoires comme la polyarthrite rhumatoïde, leurs posologies et effets secondaires étant de fait relativement bien connus.

3/ Stimuler la production de cytokines anti-inflammatoires

Un autre moyen de lutter contre cette inflammation trop importante est de favoriser la production de cytokines anti-inflammatoires, telles que IL-10. A cet égard, l'ulínastatin qui inhibe de nombreuses protéases, est utilisée afin de combattre certaines pancréatites mais aussi le choc septique. Dans ce dernier cas, son administration permettrait d'augmenter le taux d'IL-10 dans le sérum des patients, tout en réduisant la quantité de TNF- α et d'IL-6 (2).

III /

Anticoronaviraux

Les apports de la biologie structurale ont permis en un temps record - grâce aussi aux études précédentes faites sur SARS-CoV-1 - de proposer des structures et des mécanismes d'action pour des protéines non-structurales du SARS-CoV-2 (par ex. l'ARN polymérase virale, Figure 1, panneau B) et de modéliser l'interaction entre des médicaments et le complexe ARN viral- ARN

polymérase virale, établissant ainsi des modèles pour la conception rationnelle de médicaments. Les nombreuses structures de ces complexes résolues par cryo-microscopie électronique (cryo-ME) vont permettre la création de nouveaux composés anticoronaviraux et l'appropriation des composés déjà connus. Un des exemples concernant cette dernière option est le remdesivir - un médicament

antiviral à large spectre. Il s'agit d'un analogue nucléotidique qui inhibe l'élongation de la chaîne d'ARN naissante par l'ARN polymérase virale, lors de la réplication de l'ARN du virus. La séquence conservée du site catalytique de l'ARN polymérase, ainsi que son fonctionnement déduit à partir de la structure 3D à haute résolution (3), permettront d'optimiser la structure du remdesivir en développant

la conception rationnelle de dérivés permettant d'augmenter l'affinité d'interaction avec l'ARN polymérase virale. Par ailleurs, la structure aux rayons X de la protéase (M^{pro}) du SARS-CoV-2 (4), essentielle pour le clivage des polyprotéines qui sont traduites à partir de l'ARN viral, a permis l'amélioration des inhibiteurs d'alpha-cétoamide qui bloquent la M^{pro} .

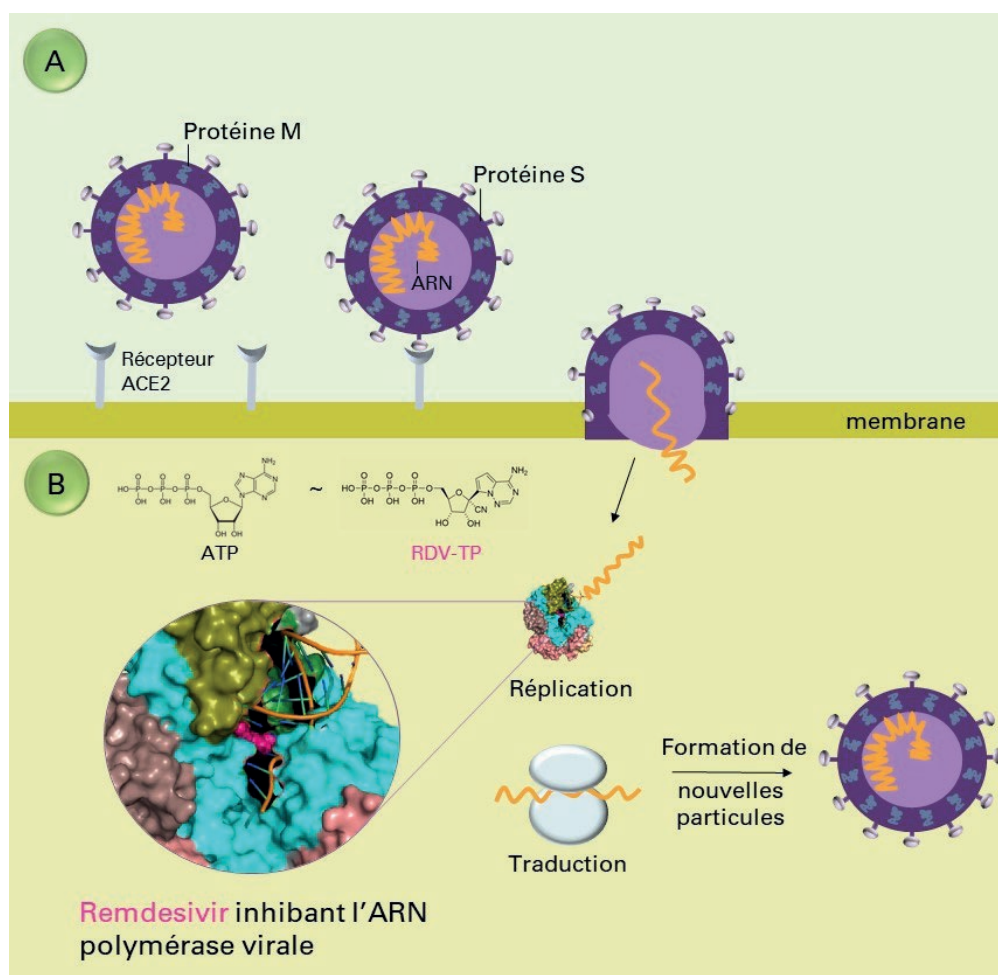


Figure 1. A & B SARS-CoV-2 dans la cellule.

(A). Reconnaissance du récepteur humain ACE2 par la protéine virale S.

(B). L'entrée du matériel génétique dans la cellule permet l'amplification du virus. Le Remdesivir (RDV-TP en rose) bloque l'ARN polymérase virale (structure établie à l'aide de PyMOL ; PDB 7BV2) en mimant la structure de l'ATP.

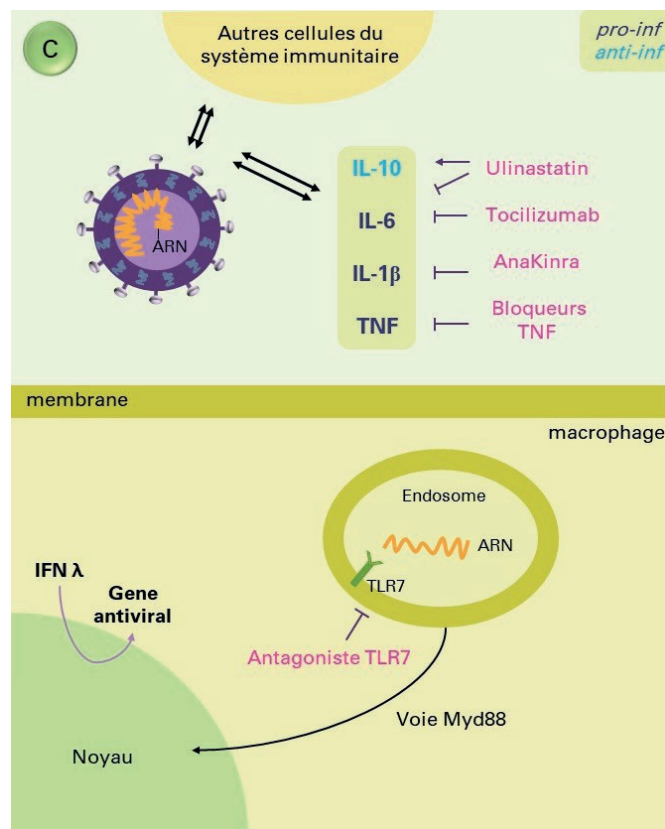


Figure 1. C
SARS-CoV-2 dans la cellule.

(C). Réponse immunitaire déclenchée lors de la reconnaissance des éléments viraux dans les macrophages et hors les cellules. Tous les composants ne sont pas à l'échelle.

IV / Les vaccins

Des informations utiles pour la création de vaccins et anticorps ont été obtenues grâce à la structure cryo-ME et au décryptage du rôle de la protéine S (5), la protéine de pointe sur la surface du virion qui permet l'entrée du virus dans les cellules (Figure 1A). Par conséquent, cette protéine est devenue l'antigène cible et la base des vaccins en préparation. Actuellement (6), les vaccins les plus avancés dans les essais cliniques sont les vaccins à vecteur viral, génétique (ARNm) et à virus entier, développés respectivement par AstraZeneca (et l'Université d'Oxford), Moderna et Sinopharm. L'Institut Pasteur en collaboration avec Merck développe également un vaccin à vecteur viral, dont les essais précliniques viennent de s'achever. Les essais cliniques devraient avoir lieu en juillet.

V / conclusion

La communauté scientifique a affronté la pandémie actuelle avec une efficacité sans précédent. Même s'il n'existe pas actuellement de traitement de référence contre la COVID-19, la compréhension très rapide des mécanismes moléculaires de l'infection ouvre des pistes thérapeutiques encourageantes. Ainsi, l'intelligence artificielle combinée aux données de biologie structurale est en train de cribler virtuellement un milliard de molécules qui seront ensuite testées cliniquement. Par ailleurs, des travaux très récents (7) suggèrent fortement qu'une déficience en IFN-I serait un marqueur des différences de sévérité de la COVID-19 entre patients.

bibliographie

1. Ye, Q., Wang, B., and Mao, J. (2020). The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *Journal of Infection* 80, 607-613.
2. Wang, H., Liu, B., Tang, Y., Chang, P., Yao, L., Huang, B., Lodato, R.F., and Liu, Z. (2019). Improvement of Sepsis Prognosis by Ulinastatin: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Front. Pharmacol.* 10, 1370.
3. Yin, W. et al. (2020) 'Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir', *Science*. AAAS, 368(6498), pp. 1499-1504. doi: 10.1126/science.abc1560.
4. Zhang, L. et al. (2020) 'Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors', *Science*. AAAS, 368(6489), pp. 409-412. doi: 10.1126/science.abb3405.
5. Walls, A. C. et al. (2020) 'Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein', *Cell*, 181(2), pp. 281-292.e6. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058.
6. Corum, J. et al. (no date) 'Coronavirus Vaccine Tracker', *The New York Times*. Available at: <https://www.nytimes.com/interactive/2020/science/coronavirus-vaccine-tracker.html> (Accessed: 12 July 2020).
7. Hadjadj, J et al., *Science* 10.1126/science.abc6027 (2020).

En tout état de cause, en l'absence de vaccin et éventuellement dans l'avenir, la combinaison de traitements serait l'option optimale à appliquer chez les patients.



Marine GUIVARCH
et Nevena SLOVIC
École Universitaire de
Recherche IMCBio,
Université de Strasbourg

Les ARNm

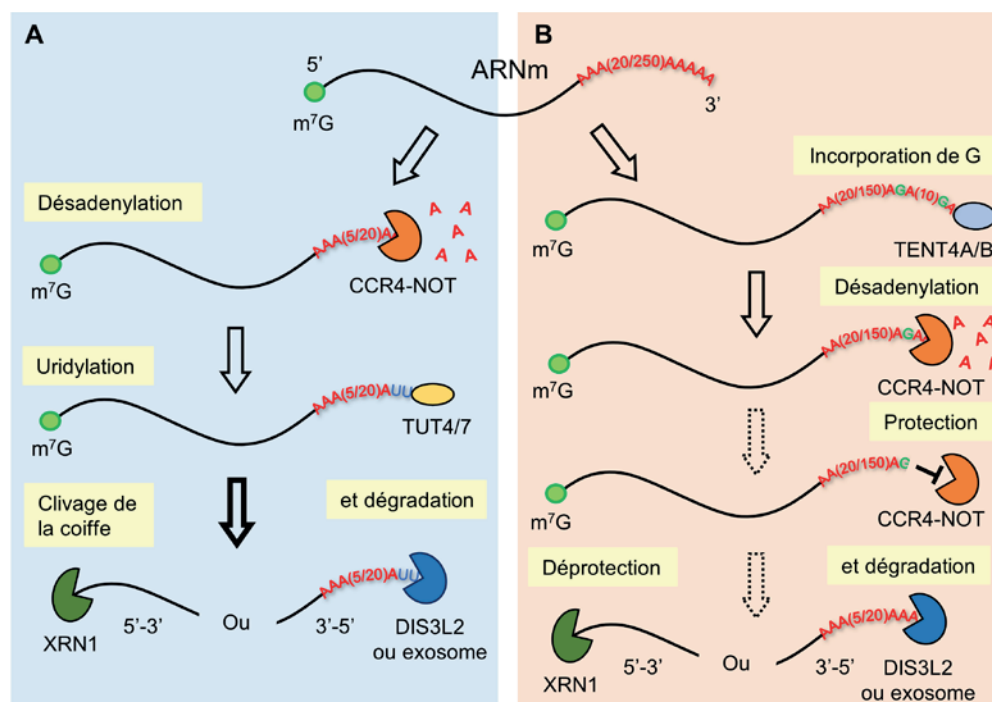
une queue pas que poly(A)

Dans les années 1970, plusieurs groupes identifièrent la présence d'une queue poly(A) à l'extrémité 3' des ARNm eucaryotes (1). Au début, cette queue fut utilisée principalement comme outil pour purifier les ARNm ou synthétiser des ADNc. De nombreuses études biologiques ont ensuite été menées pour élucider son rôle et sa formation. La polyadénylation des pré-ARNm est possible grâce à plusieurs complexes protéiques qui reconnaissent des signaux de la séquence 3' non traduite du pré-ARNm. Ces complexes permettent le clivage de l'ARNm en cours de synthèse, ainsi que le recrutement d'une polyA polymérase. Cette enzyme va synthétiser une queue poly(A) de plusieurs dizaines de A, variable selon les espèces (2). Cette queue joue différents rôles dans l'export de l'ARNm du noyau, mais aussi dans sa traduction, sa protection et sa dégradation. Depuis la découverte des queues poly(A), de nombreux travaux, notamment grâce au séquençage de nouvelle génération, ont montré que les queues poly(A) pouvaient contenir d'autres nucléotides que des A, notamment des U mais aussi des G et des C. Cela est possible grâce aux terminal nucleotidyltransférases (TENT) (3,4), des enzymes capables de catalyser sans matrice l'ajout de nucléotides à l'extrémité 3' des ARN. Les rôles des TENT sont encore méconnus, mais la présence de nucléotides variés dans les queues poly(A) semble importante pour la vie des ARNm. Dans cette courte revue, nous allons nous intéresser aux modifications que certaines TENT apportent aux queues poly(A) des mammifères.

Figure 1. Les modifications post-traductionnelles de la queue poly(A). (A) L'ARNm est partiellement désadénylé par le complexe CCR4-NOT. TUT4/7 ajoutent alors des U à l'extrémité 3' de l'ARNm. L'uridylation facilite le recrutement des facteurs clivant la coiffe de l'ARNm, qui est alors dégradé de 5' en 3' par l'exoribonucléase XRN1 ou de 3' en 5' par l'exosome et par l'exoribonucléase DIS3L2. (B) TENT4A/B incorporent des guanosines à la queue poly(A) de l'ARNm. La queue mixte inhibe l'action du complexe CCR4-NOT lorsqu'il rencontre un G. L'ARNm sera finalement dégradé par XRN1 ou par l'exosome et DIS3L2 avec une cinétique lente.

/ L'uridylation

L'uridylation est l'ajout de quelques U à l'extrémité 3' des ARNm, donc de la queue poly(A), par une sous-famille de TENT nommée terminal uridylyltransférases (TUT). Ces enzymes sont conservées chez la plupart des eucaryotes avec quelques exceptions (5,6). Chez l'Homme, TUT4 et TUT7 sont les principaux facteurs responsables de l'uridylation des ARNm (7). En effet, plus de 85% des ARNm humains sont uridylysés. L'uridylation est désormais considérée comme une étape intégrale de la dégradation des ARNm. Au cours de celle-ci, une première étape de désadénylation partielle, souvent effectuée par le complexe CCR4-NOT, est nécessaire (Fig. 1). Des U sont ensuite fréquemment ajoutés et vont recruter différents complexes protéiques facilitant le clivage de la coiffe de l'ARNm.



Ce dernier sera alors dégradé de l'extrémité 5' vers 3' par l'exoribonucléase XRN1 (6,7). Dans certains cas, la queue uridylysée est reconnue par l'exosome ou par l'exoribonucléase DIS3L2 qui vont dégrader l'ARNm de l'extrémité 3' vers 5' (5,6). Au niveau cellulaire, l'uridylation du transcriptome par

TUT4/7 joue un rôle dans l'apoptose en permettant la dégradation des ARNm par DIS3L2 après la perméabilisation de la membrane mitochondriale externe (MOMP en Anglais). Par ailleurs, une double inactivation de TUT4 et 7 a un effet anti-apoptotique contribuant à certains cancers

(4,6). TUT4 et 7 sont aussi indispensables pour compléter la méiose I des oocytes de souris et pour le développement précoce de l'embryon juste après la fécondation. En effet, l'uridylation permet la dégradation rapide de différents groupes d'ARNm contribuant à l'oogénèse (4,6).

/ Les queues mixtes

Certaines TENT catalysent l'incorporation d'autres résidus non-adénosine au niveau de la queue poly(A) des ARNm. Ainsi, chez l'Homme, TENT4A et TENT4B génèrent des queues mixtes avec une préférence pour le GTP par rapport au CTP et UTP (8). Cette modification post-transcriptionnelle, constatée initialement chez *Saccharomyces cerevisiae*, est conservée chez les vertébrés, où des profils de queues similaires sont aussi retrouvés chez *Xenopus laevis* et *Danio rerio* (9). L'incorporation de ces résidus concerne principalement les queues poly(A) longues (≥ 25 nucléotides) et stabilise les ARNm en bloquant le complexe de désadénylation CCR4-NOT (Fig. 1). En particulier, les ARNm codant pour des protéines sécrétées sont fréquemment guanosylés, suggérant une association entre la génération de queues mixtes et la traduction au niveau du réticulum endoplasmique. Ces transcrits présentent également de longues régions 3'UTR qui pourraient recruter spécifiquement TENT4A/B. Cependant, ces hypothèses nécessitent une confirmation expérimentale. Néanmoins, la génération de queues mixtes est cruciale pour la physiologie cellulaire. En effet, la déplétion de TENT4A/B provoque des défauts de croissance chez les cellules HeLa (8,9).

/ Nouvelles techniques d'étude

Avec l'arrivée du séquençage haut débit, des techniques combinant les lectures courtes (Illumina) avec des méthodes biochimiques et informatiques avancées ont permis le profilage des queues poly(A). Cependant, du fait de la longueur des queues poly(A), ces approches ne permettaient pas d'études approfondies à haute résolution. C'est dans ce contexte que le PAlso-seq (Poly(A) inclusive RNA isoform sequencing) a été élaboré (10). Cette stratégie permet l'analyse précise des ARNm et de leurs isoformes en préservant la queue poly(A) via l'ajout d'un adaptateur au niveau de leurs extrémités 3'. Les ARN contenant une queue poly(A) ainsi purifiés sont rétro-transcrits et convertis en ADN

double brin. Grâce à des adaptateurs introduits lors des premières étapes, les ADNc sont circularisés, amplifiés et soumis à un séquençage par lecture longue (PacBio). Cette stratégie globale est reprise par d'autres variants comme le FLAM-seq (11). Ces nouveaux outils permettent d'étudier la régulation de la longueur de la queue poly(A) de même que la présence de nucléotides non-adénosines. La technologie PacBio permet d'envisager une connaissance fine des queues poly(A), car elle permet l'analyse de longues séquences homopolymériques avec une bonne précision. Cependant, elle reste plus chère que celle basée sur l'équipement par Illumina.

/ conclusion

Les études récentes, de manière inattendue, ont révélé que la queue poly(A) des ARNm n'était pas homogène : l'uridylation par les TENT facilite la dégradation des ARNm alors que les queues mixtes permettent leur protection. De plus, d'autres découvertes récentes sur les TENT ont montré la variété de cette famille d'enzymes ainsi que leurs rôles très importants dans la vie cellulaire (3,4,9). Néanmoins, des études supplémentaires sont nécessaires pour identifier les autres facteurs impliqués dans ces mécanismes moléculaires et préciser leur impact sur le métabolisme des ARNm. En effet, la régulation de ces modifications pourrait cacher des processus fondamentaux pour la biologie des organismes eucaryotes.

bibliographie

1. Edmonds, M. 2002 *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* 71 p 285
2. Ustyantsev et al. 2017 *Mol Biol.* 51 p 226
3. Liudkovska, V., Dziembowski, A. 2020 *WIREs RNA*
4. Warkocki et al. 2018 *Phil. Trans. R. Soc. B* 373
5. De Almeida et al. 2018 *Phil. Trans. R. Soc. B* 373
6. Zigackova, D. et al. 2018 *Phil. Trans. R. Soc. B* 373
7. Lim et al. 2014 *Cell* 159 p 1365
8. Lim et al. 2018 *Science* 361 p 701
9. Yu, S., Kim, V.N. 2020 *Nat Rev Mol Cell Biol*
10. Liu et al. 2018 *Nat Comm* 10
11. Legnini et al. 2019 *Nat Methods* 16 p 879



Pietro GIRAUDO
et Zakaria BOULAHTOUF
École Universitaire de
Recherche IMCBio,
Université de Strasbourg

APPEL À COTISATION



La SFBBM a besoin de vous.

N'oubliez pas de régler votre cotisation 2020. Elle vous donne droit à une déduction fiscale et vous permet d'assister à tarif réduit aux nombreuses manifestations scientifiques organisées par la Société.

Des bourses et des prix sont réservés aux jeunes chercheurs en réglant votre cotisation 2020. Le paiement par carte bancaire est possible.



consultez
www.sfbbm.fr

Conception graphique
www.atuslab.fr