



**HAL**  
open science

## Caractérisation fonctionnelle du complexe ribonucléoprotéique TRBP/RPAP3

Mathieu Rederstorff

► **To cite this version:**

Mathieu Rederstorff. Caractérisation fonctionnelle du complexe ribonucléoprotéique TRBP/RPAP3. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Lorraine, 2024. tel-04546126

**HAL Id: tel-04546126**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-04546126v1>**

Submitted on 19 Apr 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



# **Habilitation à Diriger des Recherches**

**Sciences de la Vie et de la Santé**

**Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie**

**Mathieu REDERSTORFF**

**Caractérisation fonctionnelle du complexe  
ribonucléoprotéique TRBP/RPAP3**

Soutenue publiquement le

**11 Avril 2024**

**Membres du jury :**

Dr. Bérengère Pradet-Balade, Rapportrice

Dr. Christine Allmang-Cura, Examinatrice

Dr. Julio Saez-Vasquez, Rapporteur

Pr. Sandrine Boschi-Muller, Examinatrice

Pr. Mickaël Ryckelynck, Rapporteur

Pr. Bruno Charpentier, Parrain Scientifique



## SOMMAIRE

<b>Curriculum Vitae</b>	<b>Page 04</b>
<b>I. Présentation des activités d'enseignement</b>	<b>Page 07</b>
<b>II. Présentation des activités d'encadrement</b>	<b>Page 09</b>
A. Co-directions de Thèses	<b>Page 09</b>
B. Encadrements de Master 2	<b>Page 12</b>
C. Autres encadrements	<b>Page 12</b>
<b>III. Présentation synthétique des activités de recherche</b>	<b>Page 13</b>
A. Liste des publications	<b>Page 13</b>
B. Liste des financements obtenus	<b>Page 20</b>
C. Expertise	<b>Page 20</b>
D. Collaborations	<b>Page 22</b>
<b>IV. Présentation des projets de recherche</b>	<b>Page 23</b>
A. Travail de thèse: Étude de SELENON	<b>Page 25</b>
1) <i>Introduction</i>	<b>Page 25</b>
2) <i>Études cellulaires et biochimiques</i>	<b>Page 27</b>
3) <i>Modèles animaux</i>	<b>Page 28</b>
4) <i>Stratégie de thérapie génique</i>	<b>Page 33</b>
5) <i>Conclusion</i>	<b>Page 35</b>
B. Post-doctorat	<b>Page 36</b>
1) <i>Introduction</i>	<b>Page 36</b>
2) <i>RNP-omique</i>	<b>Page 39</b>
3) <i>ARNnc et développement neuronal</i>	<b>Page 43</b>

4) <i>tRF</i> chez <i>A.fumigatus</i>	<b>Page 45</b>
C. Principaux projets à l'Université de Lorraine	<b>Page 48</b>
1) <i>Introduction</i>	<b>Page 48</b>
2) <i>Etude de la protéine Rrp9 de la snoRNP U3</i>	<b>Page 50</b>
3) <i>Maturation des petits ARN dérivés de snoARN précurseurs</i>	<b>Page 56</b>
<b>V. Projet de recherche</b>	<b>Page 61</b>
Résumé du projet de recherche	<b>Page 61</b>
<b>VI. Bibliographie</b>	<b>Page 62</b>

**Mathieu REDERSTORFF**

Université de Lorraine  
 CNRS – UMR 7365 - IMoPA  
 Campus Médecine Brabois  
 9 avenue de la Forêt de Haye, BP20199  
 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex  
 Téléphone: + 00 33 (0) 3 72 74 66 50  
 Mail: mathieu.rederstorff@univ-lorraine.fr

IdHAL : mathieu-rederstorff, IdRef: 117665126  
 ORCID : 0000-0002-4931-0777  
 Scopus : 8079101600, ResearcherID: A-8270-2008

**Formation**

2008: **Qualification aux fonctions de Maître de conférences:** Section 64, Biochimie et Biologie Moléculaire; Section 65, Biologie Cellulaire  
 10/2002 à 09/2006: **Doctorat** en Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IBMC) (directeur Eric Westhof), Université Louis Pasteur (ULP), Strasbourg, France  
 10/2001 à 07/2002: **DEA** de Biologie Cellulaire et Moléculaire (Mention Bien), option Biologie Structurale et Moléculaire, ULP, Strasbourg, France  
 2000-2001: **Maîtrise** de Biochimie Moléculaire et Cellulaire (Mention Bien), ULP, Strasbourg  
 1999-2000: **Licence** de Biochimie (Mention Bien), ULP, Strasbourg  
 1997-1999: **DEUG** de Sciences de la Vie (Mention Bien), ULP, Strasbourg  
 1997: **Baccalauréat** Scientifique, Spécialité SVT (Mention Bien), LEGT Ribeauvillé

Autres formations:

2023: Ludopédagogie  
 2018: Approches par Compétence  
 10/2012: Accompagner et Encadrer un doctorant  
 01/2009: **EMBO workshop**, New Functions of Regulatory RNAs in Pro- and Eukaryotes, Vienne, Autriche  
 09/2005: **Ecole d'été EMBO**, La souris comme modèle de pathologies humaines, Bischoffsheim, France  
 06/2003: **6<sup>e</sup> Ecole d'été de Myologie**, Institut de Myologie, Paris, France  
 2002 : Initiation au droit et la propriété intellectuelle  
 2002 : Sensibilisation à l'entrepreneuriat et stratégie de création d'entreprise

**Activités de recherche (pour le détail, voir sections III. A. Liste des publications et IV. Présentation des projets de recherche)**

Depuis 2010 Maitre de conférences : Laboratoire IMoPA, UMR 7365 CNRS Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy.  
 2007 - 2010 Stage postdoctoral : Innsbruck Biocenter, Division of Genomics and RNomics, (directeur: Pr. Alexander Hüttenhofer), Innsbruck Medical University, Innsbruck, Autriche  
 Financement : 2007-2008 et 2010: GEN-AU (Genomforschung in Österreich, contrat du laboratoire)  
 2009-2010: Poste de professeur assistant, Innsbruck Medical University  
**Projet de recherche: Identification de nouveaux petits ARNs non codants.**  
 10/06 – 12/06 Stage postdoctoral : INSERM, U 582, (directrice: Dr. Pascale Guicheney), Institut de Myologie, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
 Financement : Bourse de postdoc INSERM  
**Projet de recherche: Analyse de la souris invalidée pour le gène de la sélénoprotéine N.**

- 2002 – 2006 Stage doctoral : CNRS, UPR 9002, IBMC, Strasbourg, France (directeur: Pr. Eric Westhof)  
Directeurs de thèse: Drs. Krol A. et Lescure A.  
Financement : 2005-2006: ½ poste d'ATER, ULP, Strasbourg  
2002-2005: Allocation MENRT  
**Projet de recherche**: “**Etude du rôle du sélénium et de la sélénoprotéine N dans les pathologies musculaires.**”  
Thèse soutenue publiquement le 15/09/2006 ; Membres du Jury : Pr. Köhrle (Berlin), Pr. Lunardi (Grenoble), Dr. Metzger (Illkirch), Pr. Westhof (Strasbourg), Dr. Lescure (Strasbourg), Dr. Krol (Strasbourg) ; Disponible en ligne : <http://eprints-scd-ulp.u-strasbg.fr:8080/579/>
- 2001 – 2002 Stage de DEA : CNRS, UPR 9002, IBMC, Strasbourg, France (directeur: Pr. Eric Westhof)  
Directeurs de stage: Drs. Krol A. et Lescure A.  
(Bourse de DEA du ministère de l'éducation nationale)  
**Projet de recherche**: “**Construction d'outils pour la caractérisation fonctionnelle de la Sélénoprotéine N.**”

***Collaborations depuis le recrutement à l'Université de Lorraine (passées et actuelles)***

- Stefan Stamm**, Université du Kentucky, Lexington, USA
- Denis Lafontaine**, Université libre de Bruxelles, Belgique
- David Tollervey**, Université d'Edinburgh, Ecosse
- Edouard Bertrand** et **Céline Verheggen**, Institut de Génétique Humain, Montpellier, France
- Lionel Imbert**, Institut de Biologie Structurale, Grenoble, France
- Yuri Motorin** et **Virginie Marchand**, Unité Mixte de Service IBSLor, Vandœuvre-lès-Nancy, France

***Activités d'enseignement (pour le détail, voir section I. Présentation des activités d'enseignement)***

- Depuis 2010 Travaux pratiques, travaux dirigés et cours magistraux de biologie moléculaire et cellulaire et biochimie, niveaux L2 à M2, Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Technologies (192 heures/an)
- 2007 - 2010 Co-responsable des travaux-pratiques de “Bioinformatique et nouvelles technologies d'étude de l'ARN” dans le cadre du programme de thèse en Neurosciences, Innsbruck, Autriche (responsable: Pr. A. Hüttenhofer)
- 2005-2006 Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (demi-poste), Université Louis Pasteur, Strasbourg: Formation Pratique en Biologie Moléculaire (FPB1, responsable Pr. Bruno Chatton)
- 1998 Stage volontaire dans le cadre du MRAPP, TP de biologie dans une classe de 6<sup>ème</sup> pendant une semaine; enseignant: Dr. Alain Florentz, Collège Sainte-Marie, Ribeauvillé

***Activités d'encadrement (pour le détail, voir section II. Présentation des activités d'encadrement)***

- Depuis 2021 Co-encadrement, avec le Dr. X. Manival, de la thèse de C. Virciglio : Régulation de l'Activité de TRBP par RPAP3. Université de Lorraine. (encadrement de Camille Virciglio en M2 2020-2021).
- 2012 - 2016 Co-encadrement, avec le Pr. B. Charpentier, de la thèse de Y. Abel : Caractérisation structurale et fonctionnelle d'une nouvelle interaction entre les protéines RPAP3 et TRBP. Université de Lorraine. (encadrement de Yoann Abel en M2 2011-2012).
- 2011 - 2015 Co-encadrement, avec le Dr. C. Branlant, de la thèse de G. Clerget : Caractérisation des propriétés d'un mutant de la protéine Rrp9 de la snoRNP U3 de levure *Saccharomyces cerevisiae* et mise en évidence d'un réseau de protéines au sein du complexe de maturation précoce des ARNr. Université de Lorraine.
- 2008-2012 Co-encadrement, avec le Pr. A. Hüttenhofer, de la thèse de K. Skreka : Identification and expression profiling of novel ncRNAs involved in neural differentiation, Innsbruck Medical University.
- 2002-2022 Encadrement de nombreux étudiants en BTS (1<sup>ère</sup> et seconde année), L3, et M1.

**Financements (pour le détail, voir section III. B. Liste des financements obtenus)**

2022 – 2025	Régulation des Activités de la Protéine TRBP par la protéine RPAP3 (ANRS).
2020 – 2021	Étude du rôle de la protéine RPAP3 et du complexe R2TP dans la fonction de la protéine TRBP et la réplication du virus HIV (ANRS).
2018	Régulation de la maturation d'ARN non-codants par le Complexe TRBP/RPAP3 (Pôle BMS).
2017	Jouvence du parc de centrifugeuses gros et moyens volumes (Pôle BMS).
2015	Intérêt et perspectives diagnostiques des microARN dans les cancers du sein triple négatifs (Région Lorraine).
2013 – 2014	Etude des synergies et/ou compétitions possibles entre machineries de biogénèse des snoRNP et des miRNP dans la production des deux microARN 27b et 140 ayant une implication dans le développement de tumeurs (Ligue contre le cancer).
2012	Etude des mécanismes de biogénèse de microARN dérivés de snoARN précurseurs et leur implication dans la différenciation chondrocytaire et les pathologies arthrosiques (BQR).
2011	Etude des mécanismes de biogénèse de microARN dérivés de snoARN précurseurs (BQR).

**Autre**

2018-:	Membre élu (suppléant), représentant des chercheurs et enseignants-chercheurs au conseil de laboratoire, UMR 7365 IMoPA, Biopôle, Nancy.
2018 -	Co-organisateur du congrès SifrARN de la SFBBM à Nancy.
2016 -	Membre du Comité Scientifique du congrès « Levures, Modèles et Outils ».
2012-2022:	Membre élu au Conseil du secteur Biologie, représentant des chercheurs et enseignants-chercheurs (cadres B), Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine, Nancy.
2002-2006:	Membre élu, représentant des chercheurs non-statutaires au conseil de laboratoire, UPR 9002, IBMC, Strasbourg.

**Prix**

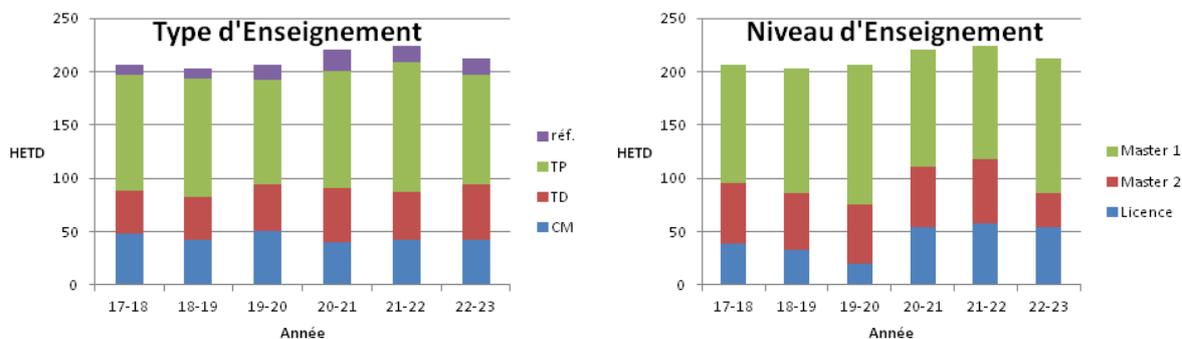
2021:	Article du mois de Février de la SFBBM, Guillaume Clerget et al. Nucleic Acids Research, 2021.
2006:	Prix de Thèse de la Société de Biologie, Strasbourg, France.
2006:	Prix Jean-Pierre EBEL du Comité National de Biochimie.

## I. Présentation des activités d'enseignement

Aussi bien au cours de ma thèse qu'au cours de mon post-doctorat, j'ai été impliqué dans l'enseignement de la Biologie Moléculaire et Cellulaire et, depuis 2010, je suis affecté à la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Lorraine à Nancy, dans le secteur Biologie, département Biochimie et Biologie Moléculaire (BBM). Mises-à-part les 5 premières années qui ont suivi mon recrutement, où j'ai bénéficié d'une décharge de 2 tiers de service (service réduit à 64h/an), j'effectue un service plein de 192 heures équivalent TD (HETD) annuelles depuis 2015 (Figure 1), réparties en enseignements de Travaux Pratiques (TP, 50%), Travaux Dirigés (TD, 25%) et Cours Magistraux (CM, 25%) (Figure 1).

Je suis membre du Conseil de Perfectionnement (CP) et de l'Equipe Pédagogique (EP) du Master Sciences de la Vie.

Par ailleurs, je suis responsable de plusieurs unités d'enseignement en Master Sciences de la Vie, dans le parcours de Master 1 « Biochimie, Biologie Moléculaire et Régulations Cellulaires » et dans le Master 2 International « RNA and Enzyme Sciences » dont je suis également responsable depuis 2012. J'effectue près de la moitié de mon service en Master 1, un quart en Master 2 et le dernier quart en Licence (L2 et L3) (Figure 1).



**Figure 1** : Répartitions des enseignements par type et niveau au cours de 6 dernières années, en heures équivalent TD (HETD). (réf. : référentiel).

Dans mes enseignements, les thématiques que j'aborde concernent les ARN en général, et les ARN non-codants en particulier. En première et seconde années de Master, au cours de nombreux cours magistraux, j'aborde différents aspects de la biologie des ARN, depuis les mécanismes généraux de la transcription et la maturation des ARN messagers (épissage), à la régulation de leur expression, notamment au niveau post-transcriptionnel, par les ARN non-codants régulateurs, longs et petits, ainsi que leur utilisation dans le cadre des nano- et

biotechnologies ou leurs applications en thérapeutique ou diagnostique biomédical. Ces enseignements me permettent d'aborder les avancées les plus récentes dans le domaine, notamment celles réalisées au laboratoire, avec des mises à jour des contenus chaque année, ce qui est d'autant plus important que les connaissances actuelles en ce qui concerne les ARN non-codants évoluent rapidement.

Tous mes enseignements en M2 sont dispensés en anglais, puisque que le M2 « RNA and Enzymes Sciences » dont je suis responsable accueille des étudiants étrangers non francophones. Cet enseignement dispensé en anglais permet ainsi aux étudiants de progresser dans leur compréhension et leur expression en langue anglaise, qui sont des critères cruciaux s'ils se destinent à une carrière scientifique, et notamment en recherche.

Je participe également aux jurys de soutenance de mémoire de stage des étudiants en Master 1 BBMRC et BCP et en Master 2 RNAES.

Enfin, je participe aux commissions de sélection pour les admissions en M1 et en M2. Outre les auditions d'un certain nombre de candidats, notamment locaux, à l'issue du processus de candidature sur e-candidat ou MonMaster.gouv.fr, ce travail consiste aussi en l'analyse et l'évaluation de centaines de dossiers d'étudiants étrangers, via Campus France, souhaitant intégrer le Master SV en première ou en seconde année.

## II. Présentation des activités d'encadrement

### A - Co-directions de Thèses

**2021-en cours : Camille Virciglio :** (Co-directeur de Thèse HDR : Dr. Xavier Manival).

Titre : Régulation de l'Activité de TRBP par RPAP3.

Articles publiés :

Yoann Abel, Christophe Charron, Camille Virciglio, Valérie Bourguignon-Igel, Marc Quinternet, Marie-Eve Chagot, Céline Verheggen, Christiane Branlant, Edouard Bertrand, Xavier Manival, Bruno Charpentier et **Mathieu Rederstorff\***. The interaction between RPAP3 and TRBP reveals a possible involvement of the HSP90/R2TP chaperone complex in the regulation of miRNA activity. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2022, 50 (4), pp.2172-2189. [10.1093/nar/gkac086](https://doi.org/10.1093/nar/gkac086). [hal-03583324](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03583324). IF 19.16 (Q1)

Camille Virciglio, Xavier Manival, **Mathieu Rederstorff\***. Un nouveau mécanisme de contrôle de la maturation des microARN ? *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2022, 38 (8-9), pp.629-631. [10.1051/medsci/2022089](https://doi.org/10.1051/medsci/2022089). [hal-03778840](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03778840). IF 0.818 (Q4)

Camille Virciglio, Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Regulatory Non-Coding RNAs: An Overview. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.3-9, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_1). [hal-03190747](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190747). IF 1.37 (Q4)

**2012-2016: Yoann Abel :** (Co-directeur de Thèse HDR : Pr. Bruno Charpentier). Titre : Caractérisation structurale et fonctionnelle d'une nouvelle interaction entre les protéines RPAP3 et TRBP.

Articles publiés :

Yoann Abel, Christophe Charron, Camille Virciglio, Valérie Bourguignon-Igel, Marc Quinternet, Marie-Eve Chagot, Céline Verheggen, Christiane Branlant, Edouard Bertrand, Xavier Manival, Bruno Charpentier et **Mathieu Rederstorff\***. The interaction between RPAP3 and TRBP reveals a possible involvement of the HSP90/R2TP chaperone complex in the regulation of miRNA activity. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2022, 50 (4), pp.2172-2189. [10.1093/nar/gkac086](https://doi.org/10.1093/nar/gkac086). [hal-03583324](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03583324). IF 19.16 (Q1)

Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Stem-Loop qRT-PCR-Based Quantification of miRNAs. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and*

*Protocols*, pp.59-64, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_6). [hal-03190754](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190754). IF 1.37 (Q4)

Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Gene Reporter Assays to Study miRNA Function. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.119-131, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_12). [hal-03190757](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190757). IF 1.37 (Q4)

Valérie Bourguignon-Igel, Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. RNA Precipitation. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.11-16, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_2). [hal-03190751](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190751). IF 1.37 (Q4)

Camille Virciglio, Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Regulatory Non-Coding RNAs: An Overview. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.3-9, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_1). [hal-03190747](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190747). IF 1.37 (Q4)

Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Gene Expression Knockdown by Transfection of siRNAs into Mammalian Cells. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.199-202, 2015, [10.1007/978-1-4939-2547-6\\_18](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2547-6_18). [hal-02124709](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02124709). IF 1.37 (Q4)

Guillaume Clerget, Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Small Non-Coding RNAs: A Quick Look in the Rearview Mirror. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.3-9, 2015, [10.1007/978-1-4939-2547-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2547-6_1). [hal-02124728](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02124728). IF 1.37 (Q4)

Yoann Abel, Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, Veronique Salone, **Mathieu Rederstorff\***. Beyond usual functions of snoRNAs. *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2014, 30 (3), pp.297-302. [10.1051/medsci/20143003018](https://doi.org/10.1051/medsci/20143003018). [hal-01452715](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01452715). IF 0.818 (Q4)

Yoann Abel et **Mathieu Rederstorff\***. SnoRNAs and the emerging class of sdRNAs: multifaceted players in oncogenesis. *Biochimie*, Elsevier, 2019, 164, pp.17-21. [10.1016/j.biochi.2019.05.006](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.05.006). [hal-02124702](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02124702). IF 3.022 (Q2)

**2011-2015: Guillaume Clerget** : (Co-directrice de Thèse HDR : Dr. Christiane Branlant).  
Titre : Caractérisation des propriétés d'un mutant de la protéine Rrp9 de la snoRNP U3 de levure *Saccharomyces cerevisiae* et mise en évidence d'un réseau de protéines au sein du complexe de maturation précoce des ARNr.

Articles publiés :

Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, Nathalie Marmier-Gourrier, Nicolas Rolland, Ludivine Wacheul, Xavier Manival, Christophe Charron, Joanna Kufel, Agnès Méreau, Véronique Senty-Ségault, David Tollervey, Denis Lafontaine, Christiane Branlant et **Mathieu Rederstorff\***. Synergistic defects in pre-rRNA processing from

mutations in the U3-specific protein Rrp9 and U3 snoRNA. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2020, 48 (7), pp.3848-3868. [10.1093/nar/gkaa066](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa066). [hal-02615081](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02615081). IF 19.16 (Q1)

Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, **Mathieu Rederstorff\***. Alcoholic Precipitation of Small Non-Coding RNAs. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.11-16, 2015. [hal-02271766](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02271766). IF 1.37 (Q4)

Guillaume Clerget, Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Small Non-Coding RNAs: A Quick Look in the Rearview Mirror. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.3-9, 2015, [10.1007/978-1-4939-2547-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2547-6_1). [hal-02124728](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02124728). IF 1.37 (Q4)

Yoann Abel, Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, Veronique Salone, **Mathieu Rederstorff\***. Beyond usual functions of snoRNAs. *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2014, 30 (3), pp.297-302. [10.1051/medsci/20143003018](https://doi.org/10.1051/medsci/20143003018). [hal-01452715](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01452715). IF 0.818 (Q4)

**2008-2012: Konstantinia Skreka :** (Co-directeur de Thèse HDR : Pr. Alexander Hüttenhofer). Titre : Identification and expression profiling of novel ncRNAs involved in neural differentiation.

Articles publiés :

Konstantinia Skreka, Simon Schaffner, Irina-Roxanna Nat, Marek Zywicki, Ahmad Salti, Galina Apostolova, Matthias Griehl, **Mathieu Rederstorff**, Georg Dechant, Alexander Hüttenhofer. Identification of differentially expressed non-coding RNAs in embryonic stem cell neural differentiation. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2012, 40 (13), pp.6001 - 6015. [10.1093/nar/gks311](https://doi.org/10.1093/nar/gks311). [hal-01716001](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716001). IF 19.16 (Q1)

Konstantinia Skreka, **Mathieu Rederstorff\***. Une micropuce de diagnostic hybride pour la détection d'ARN non codants. *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2012, 28 (10), pp.819 - 821. [10.1051/medsci/20122810007](https://doi.org/10.1051/medsci/20122810007). [hal-01715989](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01715989). IF 0.818 (Q4)

Konstantinia Skreka, Marek Zywicki, Michael Karbiener, Alexander Hüttenhofer, Marcel Scheideler et **Mathieu Rederstorff\***. Expression Profiling of a Heterogeneous Population of ncRNAs Employing a Mixed DNA/LNA Microarray. *Journal of Nucleic Acids*, Hindawi Publishing Corporation, 2012, 2012, pp.1-10. [10.1155/2012/283560](https://doi.org/10.1155/2012/283560). [hal-02934815](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02934815). IF 2.5 (Q3)

Konstantinia Skreka, Michael Karbiener, Marek Zywicki, Alexander Hüttenhofer, Marcel Scheideler et **Mathieu Rederstorff\***. Expression Profiling of ncRNAs Employing RNP Libraries and Custom LNA/DNA Microarray Analysis. *Regulatory RNAs*, Springer Berlin Heidelberg, pp.229-251, 2012, [10.1007/978-3-642-22517-8\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-642-22517-8_9). [hal-02934834](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02934834).

## **B - Encadrements de Master 2**

**2021 : Camille Virciglio :** Caractérisation fonctionnelle de l'interaction TRBP:RPAP3.

**2012 : Yoann Abel (avec Christiane Branlant) :** Étude de la maturation des snoARN de cerveau de souris MBII-52 (SNORD115) et MBII-85 (SNORD116) en petits ARN de type microARN.

**2009 : Matthias Griehl:** Processing of the brain-specific C/D box snoRNA SNORD115.

**2008 : Michael Fink:** Differential expression of ncRNAs in a mouse model of contextual fear conditioning.

**2007 : Hubert Muckenhuber :** Differential expression of ncRNAs in trained versus non-trained mouse muscles.

## **C - Autres encadrements**

**1 technicienne de laboratoire:** Valérie Bourguignon-Igel (2011-2021).

**1 post-doc:** Véronique Salone (2012-2014).

**8 Masters 1 :** Luc Roncevic, Djamilia Soumaila Seyni, Davy Franck Mengue Meyong, Dihia Larkeche, Morgane Boi, Meriem Haddada, Madison Bergmann, Laure Kieffer

**1 Licence (3<sup>è</sup> année):** Andrea Calderari

**3 BTS (1<sup>è</sup> ou 2<sup>è</sup> année) :** Sophie Ruppert, Muriel Barbier, Maxime Forterre.

### III. Présentation synthétique des activités de recherche

#### A. Liste des publications

(39 articles et chapitres, H-factor : 17) (**Dernier auteur (21)**, Auteur correspondant\* (24), Etudiants encadrés soulignés)

Yoann Abel, Christophe Charron, Camille Virciglio, Valérie Bourguignon-Igel, Marc Quinternet, Marie-Eve Chagot, Céline Verheggen, Christiane Branlant, Edouard Bertrand, Xavier Manival, Bruno Charpentier et **Mathieu Rederstorff\***. The interaction between RPAP3 and TRBP reveals a possible involvement of the HSP90/R2TP chaperone complex in the regulation of miRNA activity. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2022, 50 (4), pp.2172-2189. [10.1093/nar/gkac086](https://doi.org/10.1093/nar/gkac086). [hal-03583324](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03583324). IF 19.16 (Q1)

Camille Virciglio, Xavier Manival, **Mathieu Rederstorff\***. Un nouveau mécanisme de contrôle de la maturation des microARN ? *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2022, 38 (8-9), pp.629-631. [10.1051/medsci/2022089](https://doi.org/10.1051/medsci/2022089). [hal-03778840](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03778840). IF 0.818 (Q4)

Sepehr Behtaji, Soudeh Ghafouri-Fard, Arezou Sayad, Ali Sattari, **Mathieu Rederstorff** et Mohammad Taheri. Identification of oxytocin-related lncRNAs and assessment of their expression in breast cancer. *Scientific Reports*, Nature Publishing Group, 2021, 11 (1), [10.1038/s41598-021-86097-2](https://doi.org/10.1038/s41598-021-86097-2). [hal-03176004](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03176004). IF 4.996 (Q1)

Yoann Abel, Christophe Charron, Valérie Bourguignon-Igel, Marc Quinternet, Marie-Eve Chagot, Céline Verheggen, Christiane Branlant, Edouard Bertrand, Xavier Manival, Bruno Charpentier et **Mathieu Rederstorff\***. Structure of the RPAP3:TRBP interaction reveals an involvement of the HSP90/R2TP chaperone complex in dsRNA pathways. *BioRxiv* 2020. [10.1101/2020.11.11.367672](https://doi.org/10.1101/2020.11.11.367672) [hal-03047335](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03047335)

Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, Nathalie Marmier-Gourrier, Nicolas Rolland, Ludivine Wacheul, Xavier Manival, Christophe Charron, Joanna Kufel, Agnès Méreau, Véronique Senty-Ségault, David Tollervy, Denis Lafontaine, Christiane Branlant et **Mathieu Rederstorff\***. Synergistic defects in pre-rRNA processing from mutations in the U3-specific protein Rrp9 and U3 snoRNA. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2020, 48 (7), pp.3848-3868. [10.1093/nar/gkaa066](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa066). [hal-02615081](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02615081). IF 19.16 (Q1)

**Mathieu Rederstorff\***. Une mutation ponctuelle dans la protéine Rrp9 de la particule U3 entraîne un découplage des clivages précoces de l'ARN pré-ribosomique. *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2020, 36 (4), pp.329-331. [10.1051/medsci/2020054](https://doi.org/10.1051/medsci/2020054). [hal-02903934](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02903934). IF 0.818 (Q4)

Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Stem-Loop qRT-PCR–Based Quantification of miRNAs. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.59-64, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_6). [hal-03190754](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190754). IF 1.37 (Q4)

Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Gene Reporter Assays to Study miRNA Function. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.119-131, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_12). [hal-03190757](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190757). IF 1.37 (Q4)

Valérie Bourguignon-Igel, Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. RNA Precipitation. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.11-16, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_2). [hal-03190751](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190751). IF 1.37 (Q4)

Camille Virciglio, Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Regulatory Non-Coding RNAs: An Overview. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.3-9, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_1). [hal-03190747](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190747). IF 1.37 (Q4)

Yoann Abel et **Mathieu Rederstorff\***. SnoRNAs and the emerging class of sdRNAs: multifaceted players in oncogenesis. *Biochimie*, Elsevier, 2019, 164, pp.17-21. [10.1016/j.biochi.2019.05.006](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.05.006). [hal-02124702](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02124702). IF 3.022 (Q2)

Thomas Clement, Veronique Salone, **Mathieu Rederstorff\***. Dual Luciferase Gene Reporter Assays to Study miRNA Function. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.187-198, 2015. [hal-02271777](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02271777). IF 1.37 (Q4)

Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, **Mathieu Rederstorff\***. Alcoholic Precipitation of Small Non-Coding RNAs. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.11-16, 2015. [hal-02271766](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02271766). IF 1.37 (Q4)

Veronique Salone, **Mathieu Rederstorff\***. Stem-Loop RT-PCR Based Quantification of Small Non-Coding RNAs. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.103-108, 2015. [hal-02271774](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02271774). IF 1.37 (Q4)

Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Gene Expression Knockdown by Transfection of siRNAs into Mammalian Cells. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.199-202, 2015, [10.1007/978-1-4939-2547-6\\_18](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2547-6_18). [hal-02124709](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02124709). IF 1.37 (Q4)

Guillaume Clerget, Yoann Abel, **Mathieu Rederstorff\***. Small Non-Coding RNAs: A Quick Look in the Rearview Mirror. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.3-9, 2015, [10.1007/978-1-4939-2547-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2547-6_1). [hal-02124728](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02124728). IF 1.37 (Q4)

Yoann Abel, Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, Veronique Salone, **Mathieu Rederstorff\***. Beyond usual functions of snoRNAs. *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2014, 30 (3), pp.297-302. [10.1051/medsci/20143003018](https://doi.org/10.1051/medsci/20143003018). [hal-01452715](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01452715). IF 0.818 (Q4)

Konstantinia Skreka, Simon Schafferer, Irina-Roxanna Nat, Marek Zywicki, Ahmad Salti, Galina Apostolova, Matthias Griehl, **Mathieu Rederstorff**, Georg Dechant, Alexander Hüttenhofer. Identification of differentially expressed non-coding RNAs in embryonic stem cell neural differentiation. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2012, 40 (13), pp.6001 - 6015. [10.1093/nar/gks311](https://doi.org/10.1093/nar/gks311). [hal-01716001](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716001). IF 19.16 (Q1)

Konstantinia Skreka, **Mathieu Rederstorff\***. Une micropuce de diagnostic hybride pour la détection d'ARN non codants. *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2012, 28 (10), pp.819 - 821. [10.1051/medsci/20122810007](https://doi.org/10.1051/medsci/20122810007). [hal-01715989](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01715989). IF 0.818 (Q4)

Konstantinia Skreka, Marek Zywicki, Michael Karbiener, Alexander Hüttenhofer, Marcel Scheideler et **Mathieu Rederstorff\***. Expression Profiling of a Heterogeneous Population of ncRNAs Employing a Mixed DNA/LNA Microarray. *Journal of Nucleic Acids*, Hindawi Publishing Corporation, 2012, 2012, pp.1-10. [10.1155/2012/283560](https://doi.org/10.1155/2012/283560). [hal-02934815](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02934815). IF 2.5 (Q3)

Konstantinia Skreka, Michael Karbiener, Marek Zywicki, Alexander Hüttenhofer, Marcel Scheideler et **Mathieu Rederstorff\***. Expression Profiling of ncRNAs Employing RNP Libraries and Custom LNA/DNA Microarray Analysis. *Regulatory RNAs*, Springer Berlin Heidelberg, pp.229-251, 2012, [10.1007/978-3-642-22517-8\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-642-22517-8_9). [hal-02934834](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02934834).

**Mathieu Rederstorff\***. Generation of cDNA Libraries from RNP-Derived Regulatory Noncoding RNAs. *Methods in Molecular Biology; Genomic Imprinting: Methods and Protocols*, pp.211-218, 2012. (DOI: [10.1007/978-1-62703-011-3\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-011-3_14)) [hal-02271757](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02271757). IF 1.37 (Q4)

**Mathieu Rederstorff\***, Alexander Hüttenhofer. cDNA library generation from ribonucleoprotein particles. *Nature Protocols*, Nature Publishing Group, 2011, 6 (2), pp.166 - 174. [10.1038/nprot.2010.186](https://doi.org/10.1038/nprot.2010.186). [hal-01703092](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01703092). IF 13.491 (Q1)

**Mathieu Rederstorff\***. Une approche originale de sélection de nouveaux ARN non codants. *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2011, 27 (4), pp.343 - 345. [10.1051/medsci/2011274003](https://doi.org/10.1051/medsci/2011274003). [hal-01716020](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716020). IF 0.818 (Q4)

**Mathieu Rederstorff**, Perrine Castets, Sandrine Arbogast, Jeanne Lainé, Stéphane Vassilopoulos, Maud Beuvin, Olivier Dubourg, Alain Vignaud, Arnaud Ferry, A Ian Krol, Valérie Allamand, Pascale Guicheney, Anan Ferreiro, Alain Lescure. Increased Muscle Stress-Sensitivity Induced by Selenoprotein N Inactivation in Mouse: A Mammalian Model for SEPNI-Related Myopathy. *PLoS ONE*, Public Library of Science, 2011, 6 (8), [10.1371/journal.pone.0023094](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023094). [hal-01716017](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716017). IF 3.24 (Q1)

Perrine Castets, Anne T. Bertrand, Maud Beuvin, Arnaud Ferry, Fabien Le Grand, Marie Castets, Guillaume Chazot, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Alain Lescure, Norma Romero, Pascale Guicheney, Valérie Allamand. Satellite cell loss and impaired muscle regeneration in selenoprotein N deficiency. *Human Molecular Genetics*, Oxford University Press, 2011, 20 (4), pp.694-704. [10.1093/hmg/ddq515](https://doi.org/10.1093/hmg/ddq515). [hal-00561402](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00561402). IF 6.15 (Q1)

Manli Shen, Eduardo Eyra, Jie Wu, Amit Khanna, Serene Josiah, **Mathieu Rederstorff**, Zhang Michael, Stefan Stamm. Direct cloning of double-stranded RNAs from RNase protection analysis reveals processing patterns of C/D box snoRNAs and provides evidence for widespread antisense transcript expression. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2011, 39 (22), pp.9720 - 9730. [10.1093/nar/gkr684](https://doi.org/10.1093/nar/gkr684). [hal-01716007](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716007). IF 19.16 (Q1)

**Mathieu Rederstorff**, Alexander Hüttenhofer. Experimental RNomics, A Global Approach to Identify Non-coding RNAs in Model Organisms, and RNPomics to Analyze the Non-coding RNP Transcriptome. *Handbook of RNA Biochemistry*, 2011. [10.1002/9783527647064.ch35](https://doi.org/10.1002/9783527647064.ch35) [hal-03534663](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03534663).

**Mathieu Rederstorff\***, Alexander Hüttenhofer. Small non-coding RNAs in disease development and host-pathogen interactions. *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, Thomson Reuters (Professional), 2010, 12 (6), pp.684-94. [{hal-02934837}](#). IF 3.89 (Q2)

**Mathieu Rederstorff\***, Stephan Bernhart, Andrea Tanzer, Marek Zywicki, Katrin Perfler, Melanie Lukasser, Ivo Hofacker, Alexander Hüttenhofer. RNPomics: Defining the ncRNA transcriptome by cDNA library generation from ribonucleo-protein particles. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2010, 38 (10), pp.e113 - e113. [{10.1093/nar/gkq057}](#). [{hal-01716044}](#). IF 19.16 (Q1)

Alaattin Kaya, Ahmet Koc, Byung Cheon Lee, Dmitri Fomenko, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Alain Lescure, Vadym Gladyshev. Compartmentalization and Regulation of Mitochondrial Function by Methionine Sulfoxide Reductases in Yeast. *Biochemistry*, American Chemical Society, 2010, 49 (39), pp.8618 - 8625. [{10.1021/bi100908v}](#). [{hal-01716042}](#). IF 3.162 (Q1)

Perrine Castets, Svetlana Maugenre, Corine Gartioux, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Alain Lescure, Shahragim Tajbakhsh, Valérie Allamand, Pascale Guicheney. Selenoprotein N is dynamically expressed during mouse development and detected early in muscle precursors. *BMC Developmental Biology*, BioMed Central, 2009, 9 (1), pp.46. [{10.1186/1471-213X-9-46}](#). [{inserm-00610658}](#). IF 1.98 (Q2)

Alain Lescure, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Pascale Guicheney, Valérie Allamand. Selenoprotein function and muscle disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, Elsevier, 2009, 1790 (11), pp.1569 - 1574. [{10.1016/j.bbagen.2009.03.002}](#). [{hal-01716049}](#). IF 4.117 (Q1)

Christoph Jöchel, **Mathieu Rederstorff**, Jana Hertel, Peter Stadler, Ivo Hofacker, Markus Schrettl, Hubertus Haas, Alexander Hüttenhofer. Small ncRNA transcriptome analysis from *Aspergillus fumigatus* suggests a novel mechanism for regulation of protein synthesis. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2008, 36 (8), pp.2677 - 2689. [{10.1093/nar/gkn123}](#). [{hal-01716064}](#). IF 19.16 (Q1)

**Mathieu Rederstorff**, Valérie Allamand, Pascale Guicheney, Corinne Gartioux, Pascale Richard, Denys Chaigne, Alain Krol, Alain Lescure. Ex vivo correction of selenoprotein N deficiency in rigid spine muscular dystrophy caused by a mutation in the selenocysteine codon. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2008, 36 (1), pp.237 - 244. [{doi:10.1093/nar/gkm1033}](#). [{hal-01716066}](#). IF 19.16 (Q1)

Alain Lescure, Marzanna Denziak, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol. Molecular basis for the role of selenium in muscle development and function. *Chemistry and Biodiversity*, Wiley, 2008, 5 (3), pp.408-13. [{10.1002/cbdv.200890041}](#). [{hal-00288375}](#). IF 2.74 (Q3)

Marzanna Denziak, Christine Thisse, **Mathieu Rederstorff**, Colette Hindelang, Bernard Thisse, Alain Lescure. Loss of selenoprotein N function causes disruption of muscle architecture in the zebrafish embryo. *Experimental Cell Research*, Elsevier, 2007, 313 (1), pp.156-67. [{10.1016/j.yexcr.2006.10.005}](#). [{hal-00167521}](#). IF 3.905 (Q2)

**Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Alain Lescure. Understanding the importance of selenium and selenoproteins in muscle function. *Cellular and Molecular Life Sciences*, Springer Verlag, 2006, 63 (1), pp.52-59. [10.1007/s00018-005-5313-y](https://doi.org/10.1007/s00018-005-5313-y). [hal-02271719](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02271719). IF 9.26 (Q1)

Nathalie Petit, Alain Lescure, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Bezhad Mogadaszadeh, Ulla Wewer, Pascale Guicheney. Selenoprotein N: an endoplasmic reticulum glycoprotein with an early developmental expression pattern. *Human Molecular Genetics*, Oxford University Press, 2003, 12 (9), pp.1045-1053. [10.1093/hmg/ddg115](https://doi.org/10.1093/hmg/ddg115). [hal-02271717](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02271717). IF 6.15 (Q1)

## Liste des ouvrages

**Mathieu Rederstorff**. Methods in Molecular Biology. 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3). [hal-03468537](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03468537)

**Mathieu Rederstorff**. Methods in Molecular Biology. 2015, [10.1007/978-1-4939-2547-6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2547-6). [hal-02935551](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02935551)

## Communications orales (Orateur en première position)

**Mathieu Rederstorff (Conférence sur invitation)**. Identification et classification des ARN non-codants. *Colloque National des Enseignants en Biochimie et Biologie Moléculaire en Faculté de Médecine (CNBBMM)*. Mai 2022, Saint-Raphaël, France.

**Mathieu Rederstorff**, Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, Denis L.J. Lafontaine, Christiane Branlant. Synthetic lethality between U3 snoRNA and Rrp9 protein mutants sheds new light on the role of Rrp9 for U3/pre-ribosomal RNA interaction and pre-ribosomal RNA processing. *Levures, Modèles, Outils*, Sep 2018, Rheinau, Switzerland. [hal-02935143](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02935143)

Yoann Abel, Valerie Bourguignon-Igel, Christophe Charron, Marc Quinternet, Christiane Branlant, Edouard Bertrand, Céline Verheggen, Xavier Manival, Bruno Charpentier, **Mathieu Rederstorff**. A structure-function study shows a possible role for the R2TP complex in RISC assembly and/or function. *11th sifrARN*, Nov 2018, Vandoeuvre-Lès-Nancy, France. [hal-02934866](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02934866)

Christiane Branlant, Guillaume Clerget, Benjamin Rothé, Jonathan Bizarro, Marc Quinternet, Christophe Charron, Valérie Bourguignon-Igel, Régis Back, Decebal Tiotiu, Jean-Michel Saliou, Nicolas Rolland, Frédéric Allain, Céline Dominguez, Véronique Senty Ségault, Sarah Sanglier-Cianféran, Denis Lafontaine, Céline Verheggen, Edouard Bertrand, Xavier Manival, **Mathieu Rederstorff**, Bruno Charpentier. U3 snoRNP assembly and function. *Ribosome biogenesis*, Bruxelles, Belgique, 17-22 Août 2015.

Guillaume Clerget, Valérie Bourguignon-Igel, Véronique Senty Ségault, Christophe Charron, **Mathieu Rederstorff**, Christiane Branlant. Etude des résidus de surface R289 et K290 de la protéine Rrp9p, composant de la snoRNP U3, impliqués dans la perturbation des clivages précoces A1 et A2 lors de la maturation du pré-ARNr 35S chez *S. cerevisiae*. Colloque « Levure, Modèles-Outils », Apr 2014, Bordeaux, France. [hal-03534511](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03534511)

**Mathieu Rederstorff**, Stefan Bernhart, Andrea Tanzer, Marek Zywicki, Ivo Hofacker and Alexander Hüttenhofer. Identification of novel, protein-associated, ncRNAs by generation of selective RNP libraries. Rencontres SifARN 2010, 22 Novembre 2010, Dourdan, France.

**Mathieu Rederstorff (Séminaire sur invitation)**. Identification of novel, protein-associated, ncRNAs by generation of selective RNP libraries. UMR CNRS 7214, UHP, Nancy, 2010.

**Mathieu Rederstorff (Séminaire sur invitation)**. Fishing Novel non-coding RNAs: RiboNucleoProtein Particles on deck! Innsbruck Biocenter, 2009.

**Mathieu Rederstorff**, Stefan Bernhart, Ivo Hofacker and Alexander Hüttenhofer. Identification of novel, protein-associated, ncRNAs by generation of selective RNP libraries. RNA meeting 2009, Madison, USA, 26-31 Mai 2009.

**Mathieu Rederstorff**, Marzana Deniziak, Alain Krol and Alain Lescure. Understanding Selenium and Selenoprotein N Role in Muscle Diseases. 8<sup>e</sup> Symposium sur le Sélénium en Biologie et Médecine, Madison, USA, 25-30 Juillet 2006.

**Mathieu Rederstorff (Séminaire sur invitation)**. Understanding Selenium and Selenoprotein N Role in Muscle Diseases. Institute for Genomics and RNomics, Innsbruck Biocenter, 2006.

### Communications affichées

Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, Denis L.J. Lafontaine, Christiane Branlant, **Mathieu Rederstorff**. Synthetic lethality between U3 snoRNA and Rrp9 protein mutants shed new light on the role of Rrp9 for U3/pre-ribosomal RNA interaction and pre-ribosomal RNA processing. *11th SifrARN*, Nov 2018, Vandoeuvre-lès-Nancy, France. [\(hal-02935151\)](#)

Guillaume Clerget, Valérie Bourguignon-Igel, Christophe Charron, Nathalie Marmier-Gourrier, Nicolas Rolland, Ludivine Wacheul, Agnès Méreau, Véronique Senty Ségault, Denis Lafontaine, **Mathieu Rederstorff**, Christiane Branlant. A point mutation in the *S. cerevisiae* U3 snoRNP protein Rrp9 identifies protein Rrp36 as its direct partner in pre-ribosomal RNA processing, *10th SifrARN*, Toulouse, France, 8-10 Mars 2016.

Guillaume Clerget, Christophe Charron, Valérie Bourguignon-Igel, Nathalie Marmier-Gourrier, Nicolas Rolland, Ludivine Wacheul, Agnès Méreau, Véronique Senty Ségault, Denis Lafontaine, **Mathieu Rederstorff**, Christiane Branlant. A point mutation in the *Saccharomyces cerevisiae* U3 snoRNP protein Rrp9p identifies protein Rrp36p as its direct partner in pre-ribosomal RNA processing. *20th Annual Meeting of the RNA Society*, Madison, USA, 26-31 Mai 2015.

Guillaume Clerget, Christophe Charron, Valérie Bourguignon-Igel, Ludivine Wacheul, Denis Lafontaine, **Mathieu Rederstorff**, Christiane Branlant. A point mutation in the *Saccharomyces cerevisiae* U3 snoRNP protein Rrp9p sheds new light on its function in pre-ribosomal RNA processing, *Ribosome Synthesis 2015*, Bruxelles, Belgique, 19-23 Août 2015.

Ryosuke Fujikane, Isabelle Behm-Ansmant, Anne-Sophie Tillault, Christine Loegler, **Mathieu Rederstorff**, Patrick Forterre, Christiane Branlant, Yuri Motorin, Bruno Charpentier. Contribution of protein Gar1 to the RNA guide-dependent and –independent activities of RNA-

$\Psi$ -synthase Cbf5 for rRNA modification in hyperthermophilic archaea, *Ribosome Synthesis 2015*, Bruxelles, Belgique, 19-23 Août 2015.

Yoann Abel, Valérie Bourguignon-Igel, Christiane Branlant, Bruno Charpentier, **Mathieu Rederstorff**. Un crible d'interactions protéine-protéine montre un lien possible entre le hR2TP et la biogenèse des microARN, *9th SifrARN*, Bischenberg, France, 18-20 Novembre 2013.

Guillaume Clerget, Valérie Bourguignon-Igel, Véronique Senty-Ségault, **Mathieu Rederstorff**, Christiane Branlant. Etude des résidus de surface R289 et K290 de la protéine Rrp9p, composant de la snoRNP U3, impliqués dans la perturbation des clivages précoces A1 et A2 lors de la maturation du pré-ARNr 35S chez *S. cerevisiae*, *9th SifrARN*, Bischenberg, France, 18-20 Novembre 2013.

Konstantinia Skreka, **Mathieu Rederstorff**, Irina-Roxanna Nat, Ahmad Salti, Galina, Georg Dechant and Alexander Hüttenhofer. Identification of ncRNAs involved in neuronal differentiation of mouse embryonic stem cells. RNA meeting 2009, Madison, USA, 26-31 Mai 2009.

**Mathieu Rederstorff** and Alexander Hüttenhofer. RNP libraries: a novel approach to identify disease-related ncRNAs. EMBO workshop, New Functions of Regulatory RNAs in Pro- and Eukaryotes, Vienne, Autriche, Janvier 2009.

**Mathieu Rederstorff** and Alexander Hüttenhofer. RNP libraries: a novel approach to identify disease-related ncRNAs. RNA meeting 2008, Berlin, Allemagne, Août 2008.

## **B. Liste des financements obtenus**

En tant que porteur :

**2022-2025 (+1) :** Projet de recherche ANRS, 106 k€ sur 3 ans. Régulation des Activités de la Protéine TRBP par la protéine RPAP3.

**2020-2021 :** Contrat d'Initiation ANRS, 20 k€ pour un an. Étude du rôle de la protéine RPAP3 et du complexe R2TP dans la fonction de la protéine TRBP et la réplication du virus HIV.

**2018 :** Projet incitatif Pôle BMS, 14 k€. Régulation de la maturation d'ARN non-codants par le Complexe TRBP/RPAP3.

**2017 :** Projet Structurant Pôle BMS, 19 k€. Jouvence du parc de centrifugeuses gros et moyens volumes (achat d'une centrifugeuse au sol).

**2013-2014 :** Ligue contre le cancer, 60k€ pour 2 ans. Etude des synergies et/ou compétitions possibles entre machineries de biogénèse des snoRNP et des miRNP dans la production des deux microARN 27b et 140 ayant une implication dans le développement de tumeurs.

**2012 :** BQR Post-doc (Candidate retenue Véronique Salone pour 1 an). Etude des mécanismes de biogénèse de microARN dérivés de snoARN précurseurs et leur implication dans la différenciation chondrocytaire et les pathologies arthrosiques.

**2011 :** BQR, 20 k€. Etude des mécanismes de biogénèse de microARN dérivés de snoARN précurseurs.

En tant que partenaire :

**2015 :** AAP Région PEPS (porteur : Prof. Jean-Louis Merlin), 20 k€. Intérêt et perspectives diagnostiques des microARN dans les cancers du sein triple négatifs (BreCaMiR).

## **C. Expertise/Rayonnement**

Mon expertise dans le domaine des ARN non-codants, et leur étude par des approches expérimentales, m'avait conduit en 2015 à éditer un volume complet dans la série prestigieuse d'ouvrages « Methods in Molecular Biology », consacré à la description de méthodes et de protocoles dédiés à l'étude des ARN non-codants. En effet, l'étude des ARN non-codants requiert des approches très spécifiques et souvent délicates à mettre en œuvre, avec des adaptations inhérentes aux propriétés des ARN non-codants en comparaison de certains protocoles classiques, notamment leur taille ou encore leur caractère très structuré. En 2021, j'ai ainsi assuré la réédition de cet ouvrage complet, qui constitue un second volume à part entière, avec la réactualisation de quelques chapitres existant dans le volume initial, mais également de très nombreux chapitres inédits. Par ailleurs, pour ce second ouvrage, j'ai

assuré la rédaction de 4 chapitres de revue ou de méthodologie avec des étudiants que j'encadrerais. Ces ouvrages permettent également d'assurer le rayonnement de notre laboratoire puisque de nombreux chapitres sont réalisés par des membres de l'équipe (8 en 2015, et 13 en 2021), ainsi que par des collaborateurs, nationaux ou internationaux.

Mon expertise dans le domaine des ARN non-codants m'ont permis d'être sollicité ponctuellement pour l'évaluation d'articles de recherche dans des journaux à comité de lecture (2-3 articles par an : Nucleic Acids Research, RNA journal, RNA Biology, Scientific Reports, Cell Biology and Toxicology, Frontiers in Cell and Developmental Biology, Biomedical Research, ...).

Cette reconnaissance se traduit également par ma participation à des comités scientifiques ou des comités d'organisation de congrès. Ainsi, en 2018, j'ai été coorganisateur du Congrès SifrARN de la Société Française de Biochimie et de Biologie Moléculaire (SFBBM) avec une grande partie des membres de l'équipe 1 de l'unité IMoPA. En outre, j'avais assuré la mise en place du site internet du congrès, ainsi que réalisé l'affiche du congrès.

Depuis plus de 7 ans maintenant, je suis également membre du comité scientifique du congrès Levures-Modèles-Outils (LMO), organisé tous les deux ans, au cours duquel j'anime une session scientifique dont j'assure la sélection des présentations orales, ou encore participe à la sélection des récompenses distribuées à l'issue du congrès.

Enfin, dans un souci de diffusion du savoir, et en particulier de nos résultats les plus récemment publiés, à destination d'un public plus large, j'ai rédigé des nouvelles pour la revue en français Médecine/Sciences, notamment destinée aux médecins.

Dans la même démarche, pour un public encore plus large, j'ai participé à de nombreuses reprises aux cordées de la réussite, ou encore à la visite de notre laboratoire lors de la semaine de la science. J'ai obtenu également en 2023, dans le cadre d'un appel d'offre Lorraine Université d'Excellence (LUE) et du programme ORION (Osez la Recherche) un financement pour l'organisation d'un évènement scientifique et ludique, autour des jeux de société en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Cet évènement aura lieu de manière pérenne j'espère, maintenant que le matériel pédagogique a été acquis.

**2021 et 2022** : Rapporteur externe dans deux comités de sélection pour des postes de Maître de Conférences et de Formation en section 64 à l'Université de Strasbourg.

**2018** : Membre du comité d'organisation du congrès SifrARN de la SFBBM à Nancy.

**Depuis 2016** : Membre du comité scientifique du congrès Levures, Modèles et Outils.

**2015** : Rapporteur externe pour la thèse de Birgit Nachbauer, sous la direction du Prof. Norbert Polacek, Université de Berne.

**Depuis 2006** : Referee pour l'évaluation d'articles soumis à la publication (NAR, RNA, Scientific Reports, COSB, JoVE, CMLS, WIREs, Wellcome Trust Research, ...).

#### **D. Collaborations**

-**Stefan Stamm**, Université du Kentucky, Lexington, USA: Séquençage et clonage de petits ARN double-brin.

-**Denis Lafontaine**, Université libre de Bruxelles, Belgique : Etude du processome, de la snoRNP U3 et de l'assemblage du ribosome.

-**David Tollervey**, Université d'Edinburgh, Ecosse: Etude du processome, de la snoRNP U3 et de l'assemblage du ribosome.

-**Edouard Bertrand** et **Céline Verheggen**, Institut de Génétique Humain, Montpellier, France : Interaction RPAP3/TRBP.

-**Lionel Imbert**, Institut de Biologie Structurale, Grenoble, France : Production de la protéine FTSJ3

-**Yuri Motorin** et **Virginie Marchand**, Unité Mixte de Service IBSLor, Vandœuvre-lès-Nancy, France : Séquençage à haut-débit, méthylation des ARN.

## **IV. Présentation des projets de recherche.**

### **Préambule**

Après un Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Moléculaire et Cellulaire, option Biologie Structurale (Université Louis Pasteur de Strasbourg), obtenu en 2002, j'ai réalisé un Doctorat en Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie, dans la même université, que j'ai soutenu en 2006, et que j'ai poursuivi par un premier court séjour postdoctoral à l'Institut de Myologie de la Pitié-Salpêtrière à Paris.

J'ai réalisé mes stages de DEA et de Doctorat à l'Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire de Strasbourg, dans l'unité « Architecture et Réactivité de l'ARN » (UPR 9002 du CNRS, « ARN »), dirigée par les Pr. B. Erhesmann puis E. Westhof, dans l'équipe des Dr. Alain Krol et Alain Lescure. Mon travail a porté sur l'étude et la caractérisation fonctionnelle de la sélénoprotéine N selon des approches biochimiques, cellulaires et physiologiques.

Au cours de ces expériences, j'ai acquis de nombreuses connaissances en Biologie Moléculaire et Cellulaire, et mon sujet de thèse m'a permis de me familiariser à un large éventail de techniques, allant de l'étude des protéines ou la culture cellulaire, à la génération de modèles animaux de pathologies humaines et à leur étude.

J'ai ainsi réalisé ma thèse dans un environnement focalisé sur l'étude des ARN au sein de l'unité, ce qui m'a notamment permis de suivre un grand nombre de séminaires de haut niveau et de participer à de nombreuses discussions scientifiques concernant les ARN, ce qui a contribué à accroître mon intérêt et mes connaissances scientifiques sur ces molécules biologiques.

N'ayant pas eu toutefois l'occasion au cours de ma thèse de travailler directement sur les ARN, j'ai souhaité aborder de façon plus concrète ce domaine en rejoignant pour un postdoctorat le groupe Genomics and RNomics du Pr. Hüttenhofer au Biozentrum de l'Université de Médecine d'Innsbruck en Autriche, pendant près de 4 années. J'ai pu y accroître l'intérêt que je portais à l'identification et l'étude de nouveaux petits ARN non-codants et acquérir de nombreuses techniques d'étude de l'ARN, que j'ai réalisées dans différents modèles d'études, humains, murins ou fongiques. J'y ai développé une nouvelle approche permettant l'identification de nouveaux ARN non-codants régulateurs dans ces différents modèles d'étude. Ceci nous a permis d'identifier de nombreux nouveaux petits ARN non-codants candidats, et également d'observer, entre autres, des petits ARN régulateurs maturés à partir d'autres ARN non-codants, tels que les ARN de transfert ou les snoARN.

Aussi bien au cours de ma thèse, dont la 4<sup>e</sup> année a consisté en un demi-poste d'Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche, qu'au cours de mon postdoctorat à Innsbruck où j'avais le statut de professeur assistant, j'ai par ailleurs été impliqué dans l'enseignement de la Biologie Moléculaire et Cellulaire, notamment à l'occasion de nombreux travaux pratiques.

J'ai eu également l'opportunité de rédiger des publications scientifiques et j'ai contribué à la rédaction de plusieurs demandes de financement. J'ai aussi évalué des manuscrits et demandes de financement d'autres groupes, et ce pour divers journaux ou organismes de financements internationaux, dans le domaine de l'ARN. Enfin, j'ai co-encadré plusieurs étudiants en master ou en thèse au cours de mon stage postdoctoral.

L'ensemble de ces compétences, tant sur le plan de la recherche, de mon expertise en Biologie Moléculaire et Cellulaire, en particulier dans le domaine des ARN, et ma capacité à mener à bien divers projets, que sur le plan de l'enseignement de la Biologie Moléculaire, a permis ma qualification dans les sections 64 et 65 du CNU.

Pour tenter de mieux comprendre les mécanismes de maturation permettant, à partir d'un snoARN précurseur, de générer de nouveaux petits ARN fonctionnels, j'ai ainsi proposé un projet de recherche qui a permis mon recrutement en 2010 à l'Université de Lorraine en tant que Maître de Conférences (section 64) sur une Chaire d'Excellence du CNRS, dans le laboratoire « ARN, RNP, structure-fonction-maturation, Enzymologie Moléculaire et Structurale », dirigé par le Dr. Christiane Branlant (UMR 7214 CNRS, « AREMS »), devenu IMoPA (UMR 7365, directeur JY. Jouzeau), au sein de l'équipe 1 dirigée par Bruno Charpentier et Yuri Motorin.

J'y ai également poursuivi une thématique historique du laboratoire, portant sur l'étude de la snoRNP U3 de levure et son implication dans la maturation de l'ARN ribosomique 18S.

## **A. Travail de thèse: Étude du rôle du sélénium et de la sélénoprotéine N dans les pathologies musculaires**

### **1) Introduction**

Le sélénium a longtemps été considéré comme un composé extrêmement toxique. Ce n'est qu'au milieu des années 1950 que son rôle physiologique a été mis en évidence. De multiples pathologies liées à des carences en sélénium ont permis de démontrer son rôle essentiel chez les animaux d'élevage puis chez l'homme. Depuis, des indices ont été apportés concernant l'importance de cet oligo-élément dans la prévention de certains types de cancers, maladies cardio-vasculaires, infections virales, ainsi que dans le bon fonctionnement des systèmes thyroïdiens ou immunitaires, la fertilité et le vieillissement (Flohé et al. 2000). Initialement, des études biochimiques avaient identifié la sélénocystéine comme la forme biologique principale du sélénium chez les animaux et les bactéries. Cet acide aminé particulier est spécifiquement incorporé dans les sélénoprotéines grâce à une machinerie traductionnelle dédiée en réponse à un codon UGA, traditionnellement reconnu comme codon stop (C. Allmang and Krol 2006; Christine Allmang, Wurth, and Krol 2009; Alain Lescure et al. 2002).

Par des approches génomiques et bioinformatiques, le répertoire exhaustif de toutes les sélénoprotéines a été établi chez les animaux et les bactéries. Vingt-cinq sélénoprotéines différentes ont été identifiées chez l'homme (Kryukov et al. 2003; Lobanov, Hatfield, and Gladyshev 2009; M. Rederstorff, Krol, and Lescure 2006). Les sélénoprotéines sont majoritairement des enzymes impliquées dans des réactions d'oxydoréduction intervenant dans des voies métaboliques diverses, comme le maintien du statut redox de la cellule, l'élimination des radicaux libres oxygénés ou la réparation des dommages causés par ceux-ci aux macromolécules biologiques, par exemple la réduction des lipides ou des méthionines oxydés. D'autres sélénoprotéines sont impliquées dans le métabolisme de l'hormone thyroïdienne, la synthèse de sélénocystéine ou différentes étapes de la spermatogenèse (M. Rederstorff, Krol, and Lescure 2006). Dans tous les cas étudiés, il a été démontré que la sélénocystéine participait directement à l'activité catalytique de l'enzyme. La sélénocystéine est un analogue de la cystéine, mais de réactivité bien supérieure. Ce gain fonctionnel est considéré comme la raison d'être des sélénoprotéines, justifiant la faible efficacité et le coût énergétique élevé de leur synthèse. Au début de ma thèse, la fonction moléculaire de plusieurs sélénoprotéines demeurait inconnue. Parmi celles-ci figurait la sélénoprotéine N (*SELENON*), une protéine qui avait été identifiée en 1999 dans l'équipe d'Alain Krol par une approche bioinformatique (A. Lescure et al. 1999).

D'anciennes observations suggéraient un lien possible entre des pathologies musculaires et des déficiences en sélénium. Toutefois, ce n'est que bien plus tard qu'il avait pu être démontré par cartographie récurrente que le locus de la dystrophie musculaire congénitale, dite à rigidité spinale, colocalisait avec un locus incluant *SELENON*, le gène codant pour la sélénoprotéine N (Moghadaszadeh et al. 1998). Le séquençage de ce gène chez des patients atteints de cette maladie musculaire avait permis d'identifier plusieurs mutations dans différentes familles, démontrant pour la première fois l'implication d'une sélénoprotéine dans une maladie génétique humaine (Moghadaszadeh et al. 2001). De plus, sur la base d'informations morphologiques et cliniques convergentes, un lien entre la sélénoprotéine N et trois autres formes de dystrophies musculaires congénitales, la myopathie à multiminicores (Ferreiro et al. 2002), la desminopathie à corps d'inclusions de type Mallory-Body (Ferreiro et al. 2004) et la myopathie à disproportion de type de fibre (Clarke et al. 2006), avait été suspecté puis confirmé par séquençage du gène chez plusieurs malades. L'identification de mutations similaires dans les 3 types de maladies avait révélé qu'elles ne constituaient en fait qu'une seule entité, avec toutefois des expressions morphologiques hétérogènes. Le dysfonctionnement de la sélénoprotéine N entraîne ainsi un large spectre myopathologique, certainement lié à d'autres facteurs environnementaux ou génétiques. Le point commun de ces pathologies consiste en une atteinte précoce plus marquée des muscles axiaux conduisant à une forte scoliose et un déficit respiratoire important (Alain Lescure et al. 2009; M. Rederstorff, Krol, and Lescure 2006).

Au début de ma thèse, peu de choses étaient connues sur la sélénoprotéine N. L'étude de son profil d'expression avait montré qu'elle était exprimée de façon ubiquitaire dans tous les tissus examinés (A. Lescure et al. 1999), un résultat surprenant au regard de la spécificité de la pathologie musculaire associée aux mutations du gène. En outre, le niveau d'expression de la sélénoprotéine N apparaissait bien plus important dans les tissus fœtaux en comparaison des tissus adultes, ce qui suggérait un rôle au cours du développement embryonnaire (Petit et al. 2003).

Ce résultat était en accord avec l'émergence particulièrement précoce de cette forme de myopathie chez les patients atteints. De plus, l'étude du patron d'expression du gène *SELENON* au cours de l'embryogenèse chez le poisson zèbre avait montré que le gène s'exprimait de façon prépondérante dans la notocorde, un tissu précurseur de la colonne vertébrale, et les somites, tissus à partir desquels les muscles se différencient. L'expression la plus forte est trouvée dans les tissus en cours de différenciation, puis diminue au cours de la morphogenèse (Thisse et al. 2003).

Des études réalisées sur des cellules en culture ont montré par ailleurs que le gène *SELENON* s'exprimait abondamment dans des fibroblastes en prolifération, puis qu'il s'éteignait progressivement au cours de la différenciation en myoblastes et myotubes (Petit et al. 2003).

Pour comprendre le rôle de la sélénoprotéine N, nous avons souhaité avant tout identifier sa fonction catalytique. Deux approches différentes avaient été développées. Des expériences utilisant différentes formes recombinantes de la sélénoprotéine N, associées à des expériences de purification de haute affinité, ont été réalisées et ont permis de mettre en évidence l'association de la sélénoprotéine N à de nombreuses protéines. En parallèle, nous avons entrepris l'élaboration d'une souris transgénique conditionnellement invalidée pour le gène *SELENON* (M.Rederstorff et al. 2011). Ce modèle animal de la pathologie, ainsi que celui réalisé chez le poisson zèbre au laboratoire (Deniziak et al. 2007), nous ont permis d'étudier la protéine et ses dysfonctionnements dans un contexte physiologique. Enfin, en collaboration avec une équipe parisienne, nous avons réalisé des expériences de correction génique par compensation d'une mutation particulière du gène *SELENON* (M. Rederstorff et al. 2008).

### Revues publiées sur le sujet :

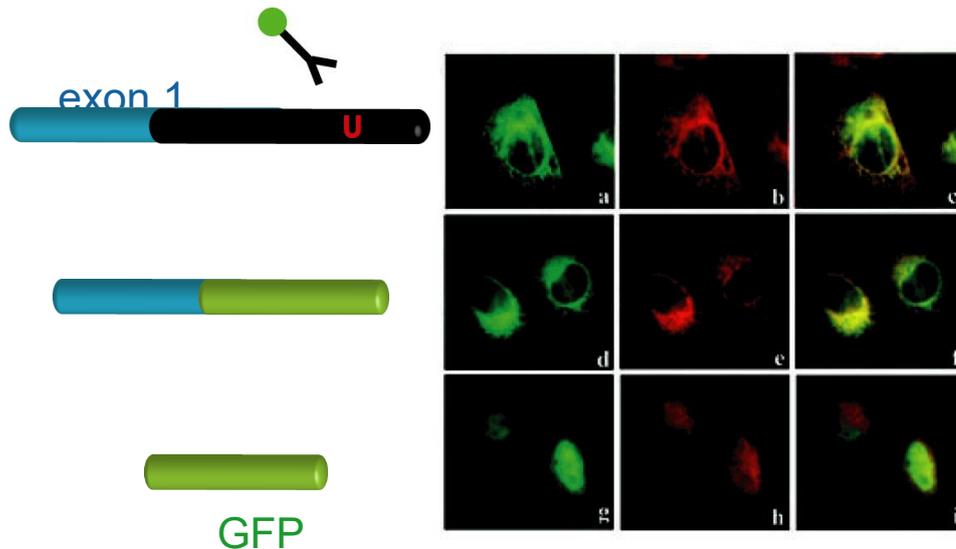
**Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Alain Lescure. Understanding the importance of selenium and selenoproteins in muscle function. *Cellular and Molecular Life Sciences*, Springer Verlag, 2006, 63 (1), pp.52-59. [10.1007/s00018-005-5313-y](https://doi.org/10.1007/s00018-005-5313-y). [hal-002271719](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-002271719). IF 9.26 (Q1)

Alain Lescure, Marzanna Deniziak, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol. Molecular basis for the role of selenium in muscle development and function. *Chemistry and Biodiversity*, Wiley, 2008, 5 (3), pp.408-13. [10.1002/cbdv.200890041](https://doi.org/10.1002/cbdv.200890041). [hal-00288375](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00288375). IF 2.74 (Q3)

Alain Lescure, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Pascale Guicheney, Valérie Allamand. Selenoprotein function and muscle disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, Elsevier, 2009, 1790 (11), pp.1569 - 1574. [10.1016/j.bbagen.2009.03.002](https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.03.002). [hal-01716049](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716049). IF 4.117 (Q1)

### 2) Études cellulaires et biochimiques

Dans un premier temps, j'ai contribué aux travaux qui ont permis de montrer que la sélénoprotéine N était une glycoprotéine de 65 kDa, associée aux membranes du réticulum endoplasmique, et que l'exon 1 était suffisant pour permettre l'adressage de la protéine à ce compartiment (Petit et al. 2003) (Figure 2). Je me suis par la suite plutôt consacré à d'autres aspects de l'étude (voir ci-dessous), néanmoins l'étude des fonctions moléculaires de la sélénoprotéine N s'est poursuivie au laboratoire, en collaboration avec différentes équipes.



**Figure 2 : Localisation subcellulaire de la sélénoprotéine N dans les cellules HeLa.** Des expériences d’immunolocalisation ont montré que la sélénoprotéine N (a) et la protéine du réticulum endoplasmique BiP (Binding immunoglobulin Protein) (b) colocalisaient dans le réticulum endoplasmique (c). Des expériences de fusion du domaine N-terminal de la sélénoprotéine N (exon 1) à la GFP ont confirmé ces résultats. La protéine de fusion (d) et la protéine BiP (e, h) colocalisent dans le réticulum endoplasmique (f), ce qui n’est pas le cas de la GFP seule (g, i).

**Article relatif :**

Nathalie Petit, Alain Lescure, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Bezhad Mogadaszadeh, Ulla Wewer, Pascale Guicheney. Selenoprotein N: an endoplasmic reticulum glycoprotein with an early developmental expression pattern. *Human Molecular Genetics*, Oxford University Press, 2003, 12 (9), pp.1045-1053. [10.1093/hmg/ddg115](https://doi.org/10.1093/hmg/ddg115). [hal-02271717](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02271717). IF 6.15 (Q1)

**3) Modèles animaux des pathologies musculaires associées à la sélénoprotéine N**

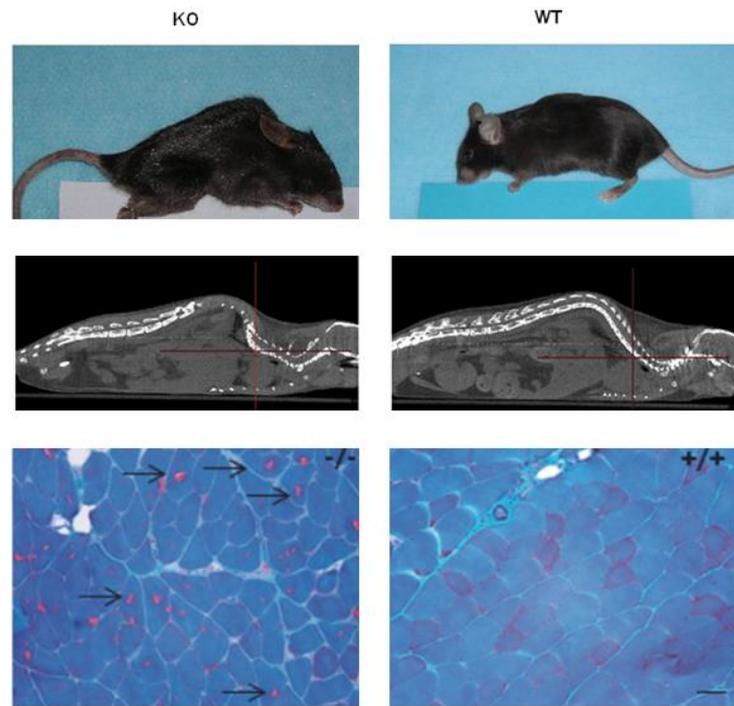
a) Modèle murin

Concernant la mise au point de modèles animaux des pathologies musculaires, nous avons dans un premier temps choisi d’utiliser le système Cre-Lox pour obtenir une souris invalidée pour le gène *SELENON*, en collaboration avec Daniel Metzger à la clinique de la souris (Mathieu Rederstorff et al. 2011). Le principal avantage de cette technique consistait en la possibilité d’obtenir la délétion conditionnelle du gène, en parallèle de l’obtention d’animaux invalidés de manière constitutive pour le gène.

De façon surprenante, les animaux ainsi obtenus ne présentaient pas d'emblée de phénotype apparent, mise à part une hyperlaxité cutanée, suggérant un éventuel problème au niveau du tissu conjonctif. Il est à noter que l'absence de phénotype apparent avait été observée également pour d'autres modèles murins de pathologies musculaires humaines, par exemple la souris *mdx*, invalidée pour le gène de la dystrophine.

Toutefois, les premières études histologiques, que j'ai réalisées au cours d'un séjour post-doctoral dans l'équipe d'Ana Ferreiro à l'Institut de Myologie de la Pitié Salpêtrière à Paris (unité INSERM de P. Guicheney), sur les animaux totalement invalidés, indiquaient que les tissus musculaires analysés présentaient plusieurs anomalies, bien que rares, caractéristiques de pathologies musculaires, telles que la présence de noyaux centraux ou de minicores, ces derniers correspondant à des zones de désorganisation cytoplasmique.

Afin de tenter de provoquer l'apparition d'un phénotype pathologique, les animaux invalidés de manière constitutive ont ainsi été soumis à un stress physiologique, lors d'exercices de nage forcée. En effet, ce type d'exercice, en plus de l'effort musculaire qu'il requière de la part des souris, provoque un stress important, lié à l'environnement, notamment la température, mais également respiratoire. Après 6 semaines d'entraînement, les souris invalidées développaient, en cours de test, un phénotype se traduisant par la rigidification progressive des membres et du tronc, associée à une perte de mobilité importante (Mathieu Rederstorff et al. 2011) (Figure 3). Cette rigidité persistait ensuite plusieurs minutes après l'arrêt du test. En outre, les souris invalidées ont développé, au fil des semaines, des scoliozes importantes, confirmant leur sensibilité accrue à l'exercice physique, en particulier en conditions de stress. Les analyses histologiques réalisées sur les animaux à l'issue des tests ont permis de confirmer l'apparition de caractéristiques dystrophiques.



**Figure 3: Phénotype des souris invalidées pour *SELENON* après tests de nage forcée.** Panneau du haut : aspects des souris invalidées et témoins âgées de 8 mois, après 3 mois de tests de nage. Une cyphose importante est observée chez les animaux invalidés (KO), absente chez les animaux sauvages (WT), confirmée par l'observation d'une torsion de la colonne vertébrale par tomographie (panneau du milieu). Des colorations de sections de quadriceps au trichrome de Gomöri révèlent la recrudescence de corps d'inclusion cytoplasmiques correspondant à des agrégats tubulaires chez les animaux invalidés, qui sont observés aussi chez les patients.

Ces résultats, notamment l'influence du stress oxydatif, sont en accord avec les résultats publiés par nos collaborateurs à Paris, obtenus sur des cellules humaines en culture, dépourvues de sélénoprotéine N (Arbogast et al. 2009).

L'étude du modèle murin a en outre permis de mettre en évidence le rôle de la sélénoprotéine N dans la régénération musculaire, puisqu'en son absence, les quantités de cellules satellites, impliquées dans la réparation des fibres musculaires sont fortement altérées (Castets et al. 2011). De façon similaire, il a également été observé que l'absence de sélénoprotéine N chez les souris invalidées était associée à un défaut de reconstitution des populations de cellules érythroïdes après un choc anémique (Paulson et al. 2018).

#### Articles relatifs :

Perrine Castets, Svetlana Maugenre, Corine Gartioux, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Alain Lescure, Shahragim Tajbakhsh, Valérie Allamand, Pascale Guicheney. Selenoprotein N is dynamically expressed during mouse development and detected early in muscle precursors.

*BMC Developmental Biology*, BioMed Central, 2009, 9 (1), pp.46. [10.1186/1471-213X-9-46](https://doi.org/10.1186/1471-213X-9-46). [inserm-00610658](https://inserm.archives-ouvertes.fr/inserm-00610658). IF 1.98 (Q2)

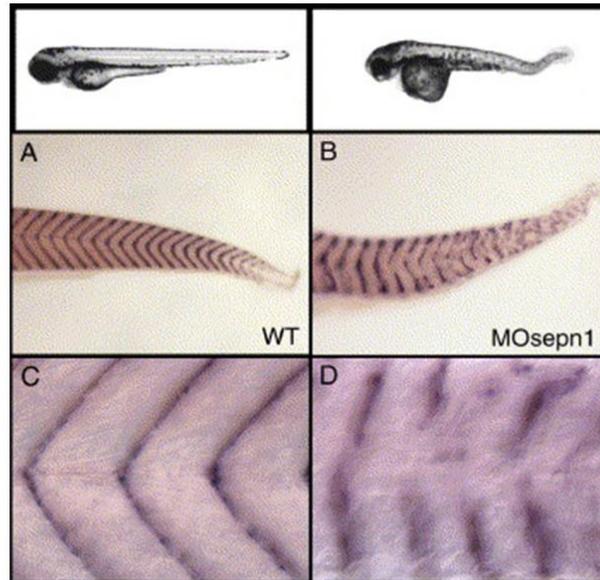
Perrine Castets, Anne T. Bertrand, Maud Beuvin, Arnaud Ferry, Fabien Le Grand, Marie Castets, Guillaume Chazot, **Mathieu Rederstorff**, Alain Krol, Alain Lescure, Norma Romero, Pascale Guicheney, Valérie Allamand. Satellite cell loss and impaired muscle regeneration in selenoprotein N deficiency. *Human Molecular Genetics*, Oxford University Press, 2011, 20 (4), pp.694-704. [10.1093/hmg/ddq515](https://doi.org/10.1093/hmg/ddq515). [hal-00561402](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00561402). IF 6.15 (Q1)

**Mathieu Rederstorff**, Perrine Castets, Sandrine Arbogast, Jeanne Lainé, Stéphane Vassilopoulos, Maud Beuvin, Olivier Dubourg, Alain Vignaud, Arnaud Ferry, Alan Krol, Valérie Allamand, Pascale Guicheney, Anan Ferreira, Alain Lescure. Increased Muscle Stress-Sensitivity Induced by Selenoprotein N Inactivation in Mouse: A Mammalian Model for SEPNI-Related Myopathy. *PLoS ONE*, Public Library of Science, 2011, 6 (8), [10.1371/journal.pone.0023094](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023094). [hal-01716017](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716017). IF 3.24 (Q1)

b) Le poisson-zèbre (*danio rerio*)

Le second modèle des pathologies musculaires associées à la sélénoprotéine N auquel j'ai contribué à été réalisé chez le poisson-zèbre (Denziak et al. 2007). Le poisson zèbre possède de nombreuses caractéristiques dont on peut facilement tirer avantage pour étudier le développement des muscles squelettiques. Les embryons de poisson zèbre sont transparents et leur développement est externe, les rendant accessibles à diverses manipulations. De ce fait, ils peuvent constituer un modèle pour différentes maladies musculaires humaines. Dans notre cas, le poisson zèbre a été utilisé pour étudier le rôle de la sélénoprotéine N au cours du développement embryonnaire précoce, notamment à des stades qui ne peuvent être étudiés ni chez l'homme, ni chez la souris. L'expression de la sélénoprotéine N a ainsi été inhibée par l'injection d'oligonucléotides antisens modifiés (morpholinos), et le phénotype des poissons a été étudié (Figure 4).

Le phénotype des embryons auxquels le morpholino spécifique a été injecté présente de nombreuses similitudes avec les patients atteints de maladies musculaires liées à la sélénoprotéine N. L'architecture musculaire est très désorganisée et la mobilité des poissons fortement réduite. L'analyse ultrastructurale des myotomes en microscopie optique et électronique a également révélé des défauts dans l'organisation sarcomérique du muscle, ainsi que dans l'ancrage des fibres musculaires.



**Figure 4: Invalidation de *SELENON* chez le poisson-zèbre.** Panneau du haut : Vue latérale des embryons injectés avec un morpholino contrôle (WT, à gauche) ou 250  $\mu$ m du morpholino dirigé contre *SELENON* (MOsepn1), qui présentent une malformation de la queue et de l'extension de la notochorde. Une coloration spécifique du myoseptum permet de voir en outre que les embryons injectés avec MOsepn1 présentent une nette désorganisation des somites, avec des déformations et des discontinuités entre les somites (B) contrairement au témoin (A, C). Un plus fort grossissement (D) permet même d'observer des myofibrilles traversant les jonctions des somites, ce qui traduit un phénotype extrêmement sévère.

Ces études ont permis une nouvelle fois de démontrer l'importance du rôle de la sélénoprotéine N pour l'organisation des muscles au cours du développement embryonnaire précoce. En outre, les altérations observées au niveau de l'architecture des myofibrilles dans les embryons dépourvus de la sélénoprotéine N ont permis de fournir de nouveaux indices quant aux mécanismes pathologiques mis en jeu lors de maladies musculaires liées à la protéine. En effet, chez le poisson, les principaux défauts sont observés au niveau des myosepta qui correspondent à la bordure des somites. Chez l'homme, ces structures correspondent aux jonctions myotendineuses, qui jouent un rôle fondamental aux niveaux des muscles centraux, alors que l'on retrouve des tendons au niveau des muscles distaux.

#### **Article relatif :**

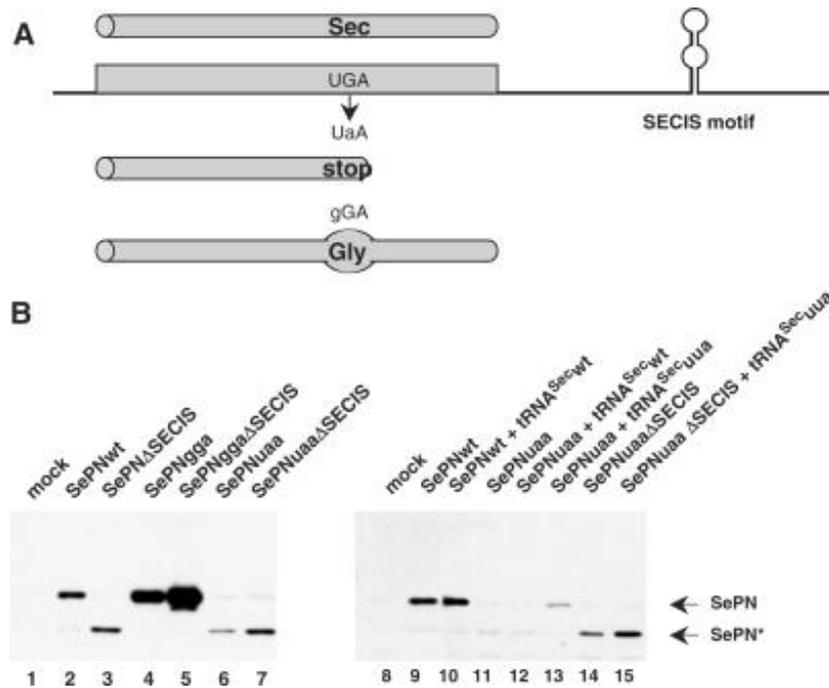
Marzanna Denziak, Christine Thisse, **Mathieu Rederstorff**, Colette Hindelang, Bernard Thisse, Alain Lescure. Loss of selenoprotein N function causes disruption of muscle architecture in the zebrafish embryo. *Experimental Cell Research*, Elsevier, 2007, 313 (1), pp.156-67. [10.1016/j.yexcr.2006.10.005](https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2006.10.005). [hal-00167521](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00167521). IF 3.905 (Q2)

#### 4) Stratégie de thérapie génique

L'une des mutations pathologiques affectant le gène *SELENON* correspond à une mutation ponctuelle convertissant le codon UGA Sélénocystéine en un codon UAA Stop, conduisant à la perte de fonction de la sélénoprotéine N (Figure 5). Plutôt que de corriger la mutation ponctuelle dans *SELENON*, nous avons proposé une stratégie de correction génique utilisant l'apport en *trans* d'un ARNt<sup>Sec</sup> modifié capable de reconnaître le codon muté UAA (M. Rederstorff et al. 2008).

Cet ARNt<sup>Sec</sup> modifié présente une mutation dans la séquence de l'anticodon qui permet de restaurer la complémentarité de bases avec le codon UAA. Ainsi, la translecture du codon UAA et l'insertion concomitante de sélénocystéine permet la synthèse d'une protéine complète et fonctionnelle. L'intérêt de cette stratégie, par rapport à la correction génique directe, était d'utiliser les particularités de la machinerie de synthèse des sélénoprotéines. En effet, l'introduction et l'expression du gène de l'ARNt<sup>Sec</sup> dans des cellules de mammifères est plus facile que celle d'un gène *SELENON* corrigé, car les mécanismes de contrôle transcriptionnel et post-transcriptionnel des ARNt sont beaucoup plus simples. En outre, la mutation ponctuelle introduite dans l'anticodon de l'ARNt<sup>Sec</sup> n'affecte en rien la charge par la sérine et sa modification ultérieure en sélénocystéine. Enfin, l'expression *in vivo* de l'ARNt<sup>Sec</sup> modifié n'interfère pas avec la machinerie générale de traduction parce qu'il n'est pas reconnu par le facteur général d'élongation, mais par un facteur d'élongation spécialisé. Il n'interfère pas non plus avec la traduction normale des autres sélénoprotéines car le codon UAA n'est représenté que sur le messager *SELENON* muté. Enfin, la machinerie d'incorporation de sélénocystéine recrutant l'ARNt<sup>Sec</sup> uniquement sur les messagers codant pour les sélénoprotéines, elle empêche l'ARNt<sup>Sec</sup> d'agir comme un suppresseur des codons UAA Stop classiques dans les autres protéines.

Nos expériences ont permis de vérifier que des cellules HeLa co-transfectées avec le gène *SELENON-UAA* et le gène de l'ARNt<sup>Sec</sup> modifié, conduisaient à la synthèse d'une sélénoprotéine N entière. De plus, la translecture du codon UAA, induite par l'ARNt<sup>Sec</sup> modifié, est bien dépendante de la présence de l'élément SECIS dans la séquence 3'UTR, ce qui démontre l'implication de la machinerie d'insertion de sélénocystéine.



**Figure 5: Stratégie de correction génique d'une mutation non-sens par un ARNt correcteur.** (A) La mutation du codon sélénocystéine UGA en codon stop UAA conduit à l'apparition d'une protéine tronquée non fonctionnelle. (B) Analyse par western-blot de l'expression de la sélénoprotéine N après transfection. Lignes 1 à 7 : transfection des constructions avec la mutation sélénocystéine (UGA) en glycine (GGA) ou non-sens (UAA), en présence ou en absence de l'élément SECIS. La bande du haut correspond à la sélénoprotéine N de pleine taille, tandis que la bande du bas correspond à la forme tronquée, obtenue en présence de la mutation non-sens, ou en absence d'élément SECIS pour la version sauvage. Lignes 8 à 15 : La co-expression du mutant non-sens (UAA) avec l'ARNt correcteur (13), mais pas avec l'ARNt sauvage (12), permet de restaurer la production de la protéine de pleine taille. Cette observation est strictement dépendante de la présence de l'élément SECIS (15).

Nous avons montré également que la transfection de l'ARNt<sup>Sec</sup> modifié, dans des fibroblastes obtenus à partir de patients porteurs de la mutation UAA, permettait de restaurer la production de la sélénoprotéine N entière.

### Article relatif :

**Mathieu Rederstorff**, Valérie Allamand, Pascale Guicheney, Corinne Gartioux, Pascale Richard, Denys Chaigne, Alain Krol, Alain Lescure. Ex vivo correction of selenoprotein N deficiency in rigid spine muscular dystrophy caused by a mutation in the selenocysteine codon. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2008, 36 (1), pp.237 - 244. [doi: 10.1093/nar/gkm1033](https://doi.org/10.1093/nar/gkm1033). [hal-01716066](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716066). IF 19.16 (Q1)

## 5) Conclusion

L'ensemble de ces différentes approches a ainsi permis d'augmenter les connaissances sur le rôle biologique de l'oligo-élément sélénium, en particulier son implication dans la physiologie du muscle. Notamment, l'étude des souris invalidées pour la sélénoprotéine N a contribué, et contribue encore aujourd'hui, à mieux comprendre les aspects physiologiques de ces pathologies, y compris aux stades embryonnaires précoces.

On sait dorénavant que la sélénoprotéine N est importante pour la détection du calcium dans le réticulum endoplasmique, via son motif EF-Hand. En absence de calcium luminal, la sélénoprotéine N, habituellement oligomérique, se dissocie en monomères dont les propriétés réductrices sur l'une de ces cibles principales, la pompe à calcium SERCA2, sont augmentées (Chernorudskiy et al. 2020). Au cours de ma thèse, j'avais identifié SERCA2 comme partenaire possible de la sélénoprotéine N, néanmoins ces résultats préliminaires n'avaient pas pu être confirmés dans un premier temps. Cette fonction de « calcium sensing » de la sélénoprotéine a également été montrée comme cruciale pour les échanges de calcium entre le réticulum endoplasmique et les mitochondries, et son dysfonctionnement chez les patients permet d'expliquer les défauts dans le métabolisme mitochondrial qui les touche (Filipe et al. 2021).

## **B. Post-doctorat : Identification et caractérisation fonctionnelle de nouveaux petits ARN non codants**

### **1) Introduction**

Les cellules de tous les organismes vivants contiennent deux catégories distinctes d'Acides RiboNucléiques (RNA) : les ARN messagers (ARNm), qui sont traduits en protéines, et les ARN non-codants (ARNnc). Ces derniers sont actifs sous leur forme d'ARN, et ils ne sont pas traduits en protéines, à de rares exceptions près (Alexander Hüttenhofer, Schattner, and Polacek 2005; Virciglio, Abel, and Rederstorff 2021). La taille des ARNnc est très variable : certains peuvent être très grands, comme c'est le cas de l'ARN Xist chez l'homme (17 kb) (Chow et al. 2005) ou de très nombreux longs ARN non-codants (lncRNA), ou extrêmement petits, comme les miARN (21-23 nt) (Bartel 2004) ou les tiARN (Taft et al. 2009). Les ARNnc remplissent des fonctions fondamentales dans différents processus cellulaires, tels la transcription, la traduction, l'épissage ou encore la réplication de l'ADN (Alexander Hüttenhofer, Schattner, and Polacek 2005; Virciglio, Abel, and Rederstorff 2021) (Figure 6). Dans les années 1990, de nombreuses équipes de recherche se consacraient à l'identification de nouveaux ARNnc régulateurs, notamment à l'aide d'approches bioinformatiques. L'identification de nouveaux ARNnc constituait également l'intérêt majeur de l'équipe du Pr. Hüttenhofer, que j'ai rejoint en 2006 pour mon post-doctorat, mais dans ce cas selon des approches expérimentales qu'il a développées sous le terme de RNomique expérimentale (Alexander Hüttenhofer and Vogel 2006; A. Hüttenhofer et al. 2001). Ces approches recourent à la génération de banques spécialisées d'ADN complémentaire (ADNc) pour l'analyse du transcriptome des ARNnc dans différents modèles d'étude, comme *L. tarentolae* (Madej, Alfonzo, and Hüttenhofer 2007; Madej et al. 2008), *A. fumigatus* (Jöchel et al. 2008), les mitochondries ou encore les chloroplastes de plantes (Lung et al. 2006). Ces banques spécialisées d'ADNc étaient initialement obtenues à partir d'ARN totaux de cellules, de tissus ou d'organismes entiers, séparés sur gel de polyacrylamide dénaturant et sélectionnés principalement en fonction de leur taille. Néanmoins, avec ces approches de génération de banques d'ADNc globales, la proportion de nouveaux ARNnc candidats intéressants demeurait relativement faible par rapport à certaines espèces retrouvées en grandes quantités dans ces banques, telles les ARN ribosomiques (ARNr), de transfert (ARNt) ou des petits ARN nucléaires impliqués dans l'épissage (snARN) (Jöchel et al. 2008) (Figure 7).

**Revue publiées sur le sujet :**

Camille Virciglio, Yoann Abel, Mathieu Rederstorff\*. Regulatory Non-Coding RNAs: An Overview. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.3-9, 2021, [10.1007/978-1-0716-1386-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_1). [hal-03190747](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03190747). IF 1.37 (Q4)

Guillaume Clerget, Yoann Abel, Mathieu Rederstorff\*. Small Non-Coding RNAs: A Quick Look in the Rearview Mirror. *Methods in Molecular Biology; Small non-coding RNAs: Methods and Protocols*, pp.3-9, 2015, [10.1007/978-1-4939-2547-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2547-6_1). [hal-02124728](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02124728). IF 1.37 (Q4)

**Mathieu Rederstorff\***, Alexander Hüttenhofer. Small non-coding RNAs in disease development and host-pathogen interactions. *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, Thomson Reuters (Professional), 2010, 12 (6), pp.684-94. [hal-02934837](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02934837). IF 3.89 (Q2)

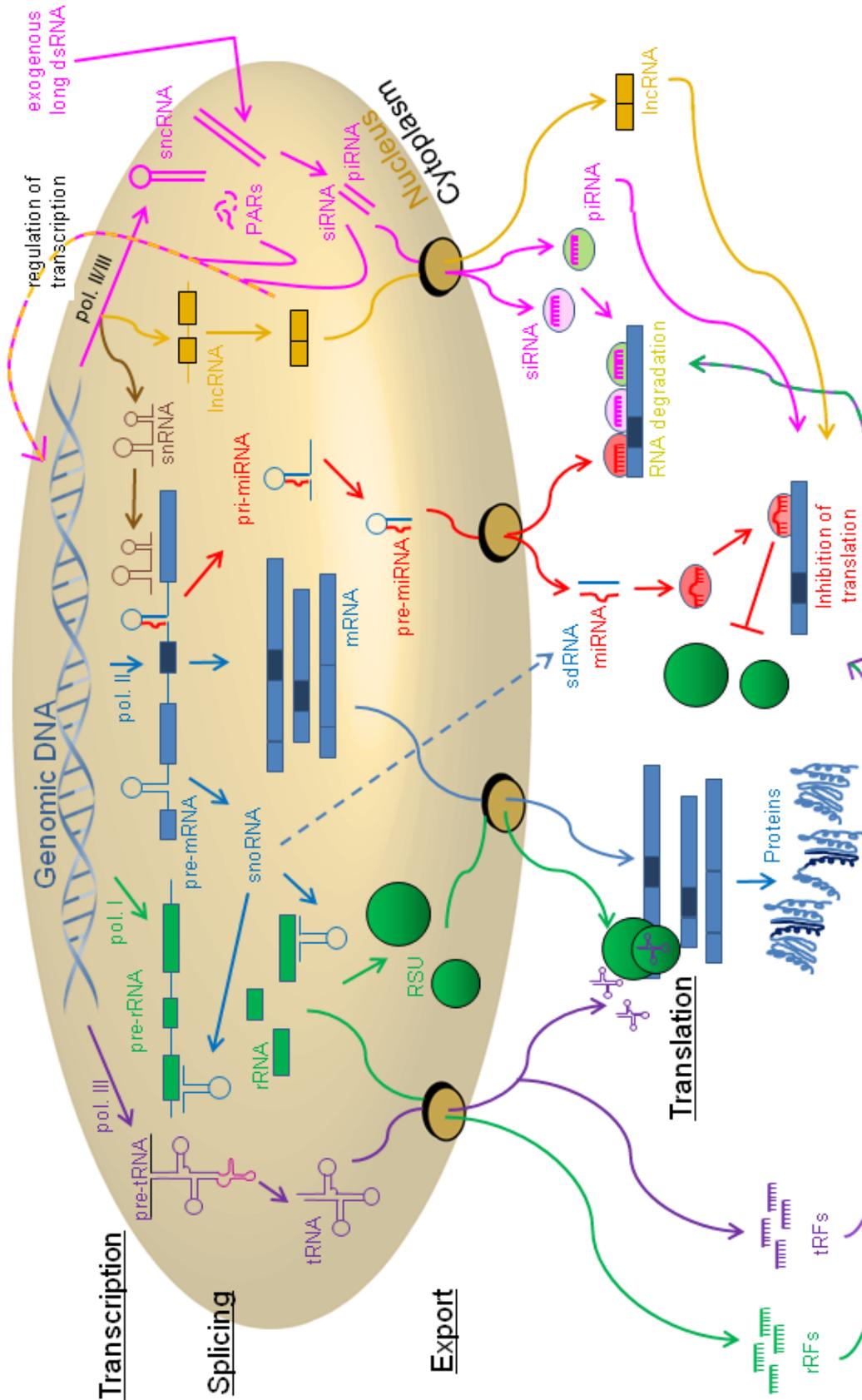
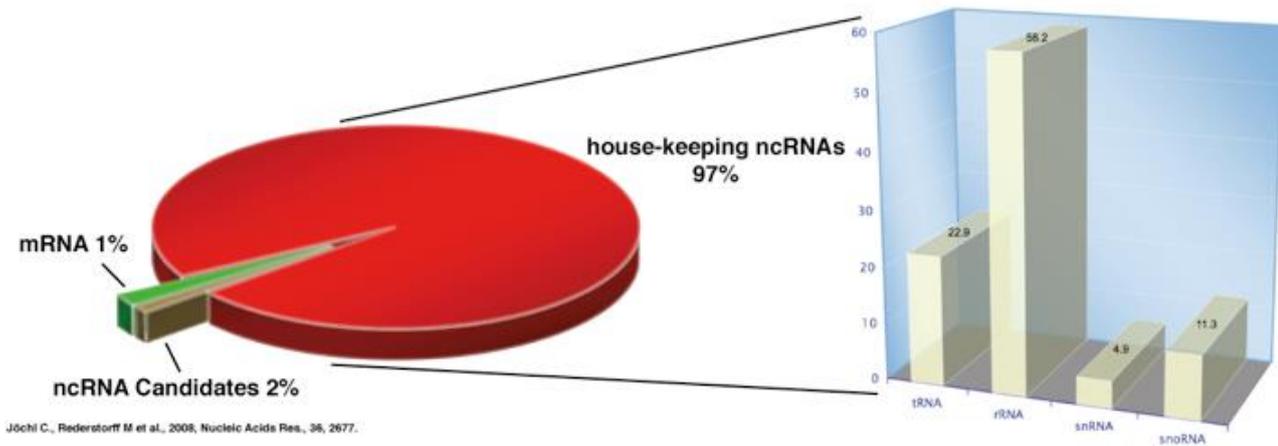


Figure 6: Le dogme central de la biologie moléculaire, représenté ici, s'est nettement complexifié avec l'identification des nombreuses familles d'ARN non-codants, impliqués dans la régulation de l'expression des gènes. Après la transcription, le pré-ARN messager est épissé dans le noyau par le spliceosome, composé notamment des petits ARN nucléaires (snARN), puis exporté dans le cytoplasme pour y être traduit, ce qui requiert les ARN de transfert (ARNt) et les sous-unités ribosomiques, contenant les ARN ribosomiques (ARNr). Les introns des pré-ARNm sont susceptibles par ailleurs de contenir les précurseurs d'autres ARN non-codants, comme les petits ARN nucléaires (snoARN) impliqués dans la maturation des ARN ribosomiques, ainsi que certains microARN (miARN), impliqués dans la régulation de la traduction. De très nombreux petits et longs ARN non-codants supplémentaires ont également été identifiés et décrits, notamment grâce aux progrès des dernières années dans les approches de séquençage à haut-débit. Ainsi, les petits ARN interférents (siARN), qui peuvent avoir une origine exogène, les piARN (piwi-associated ARN) ou les petits ARN associés aux séquences promotrices (PARs), qui présentent de multiples sous-familles, ainsi que les longs ARN non-codants (lncARN), qui peuvent être épissés/exportés, ou non, sont impliqués également dans la régulation du flux de l'information génétique, aussi bien au niveau transcriptionnel que post-transcriptionnel. Enfin, parmi ces ARN, nombreux ont été décrits qui pourraient être matures plus avant, donnant lieu à des ARN dérivés de snoARN (sdARN), à des fragments d'ARN ribosomiques ou de transfert (r-, tRFs), dont ni l'origine précise, ni toutes les fonctions, n'ont encore été déterminées. Enfin, plus récemment encore, d'autres ARN, comme les petits ARN circulaires (circARN), les ARN compétitifs endogènes, ou encore les eARN (enhancer RNA), qui ne sont pas représentés ici, complètent la liste. Tous ces ARN sont associés à une ou plusieurs protéines au sein de particules ribonucléoprotéiques (RNP), ce qui complexifie encore notre compréhension des mécanismes mis en jeu.



**Figure 7** : Analyse transcriptomique des ARN non-codants chez le micro-organisme pathogène *A. fumigatus*. Dans cet exemple, 97% des séquences correspondent à des ARN constitutifs (house-keeping), et notamment près de 60% d'ARN ribosomiques. Ceci a pour conséquence de limiter fortement l'identification de nouveaux ARN non-codants putatifs.

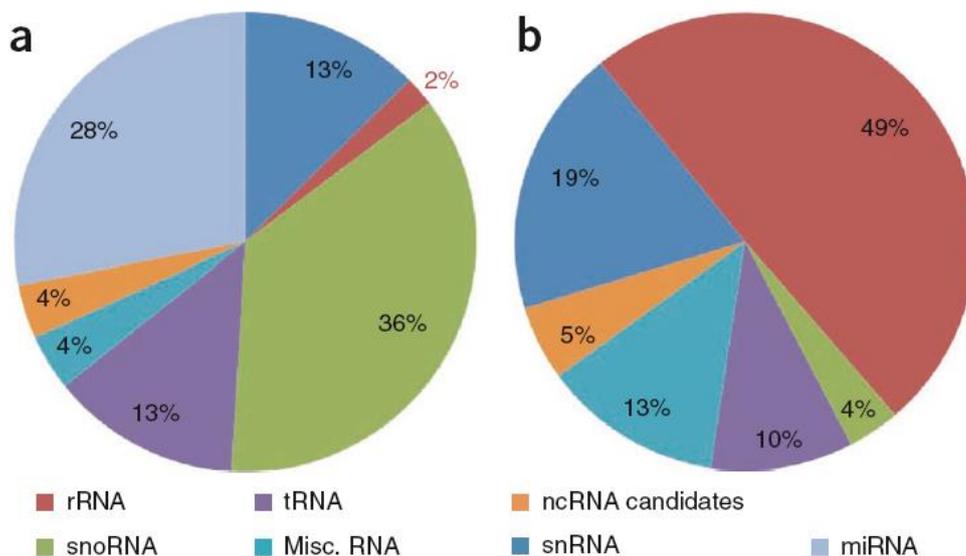
## 2) Développement d'une nouvelle méthode pour l'identification de nouveaux petits ARN non-codants régulateurs par génération de banques d'ADN complémentaire sélectives (RNP-omique)

Avant mon arrivée au laboratoire, une première technique alternative avait été mise au point, visant à la constitution de banques encore plus spécialisées. Elle reposait sur l'approche d'hybridation soustractive, déjà utilisée avec succès pour la détection d'ARNm différemment exprimés, et modifiée ici afin de sélectionner et d'amplifier de nouveaux petits ARNnc régulateurs, exprimés uniquement à certains stades de développement ou lors de conditions particulières de croissance ou de stress des cellules, par exemple en cas d'infection virale (Mrázek et al. 2007). Ainsi, la grande majorité des ARNr, ARNt ou snARN pouvaient être éliminée lors de l'étape d'hybridation soustractive et n'était donc pas clonée dans la banque.

En 2007, le consortium ENCODE, qui avait analysé, en haute résolution, 1% du génome humain, avait montré que plus de 90% de celui-ci était transcrit, mais que moins de 2% des transcrits étaient traduits en protéines (ENCODE Project Consortium et al. 2007), suggérant qu'une grande partie des transcrits restants constituaient une source extrêmement importante d'ARN non-codants régulateurs chez l'homme et sans doute chez de nombreux autres eucaryotes supérieurs (Willingham and Gingeras 2006). Pour distinguer, parmi ces transcrits, les entités fonctionnelles des ARN non-fonctionnels, j'ai mis au point une nouvelle approche basée sur la génération de banques d'ARNnc issus de Particules RiboNucléoProtéiques, c'est-à-dire dont les espèces ARN clonées sont sélectionnées sur la base de leur interaction avec des

protéines guide pour amener les protéines de modification à l'endroit correct sur l'ARN cible (Bachelier, Cavailé, and Hüttenhofer 2002). Ce rôle de guide constitue par ailleurs la fonction de très nombreux ARNnc (Alexander Hüttenhofer and Schattner 2006). Le principal avantage de cette nouvelle approche consiste ainsi en l'enrichissement de la banque en ARNnc dont la probabilité d'être fonctionnels est importante. En effet, leur interaction fortuite avec des protéines semble peu vraisemblable, révélant l'intérêt fonctionnel de leur présence au sein d'une RNP (Mathieu Rederstorff 2011; Mathieu Rederstorff and Hüttenhofer 2011; Mathieu Rederstorff et al. 2010).

Cette méthode est basée sur la sédimentation par ultracentrifugation sur gradient de glycérol des RNP présentes dans des extraits totaux, cytoplasmiques ou nucléaires. Cette étape permet également l'élimination de nombreuses molécules abondantes retrouvées en quantité avec les approches classiques de génération de banque, notamment les ARNr. Outre la disparition quasi-complète des ARN ribosomiques ou des produits de dégradation non fonctionnels d'ARN dans les différentes banques séquencées, un enrichissement de celles-ci en faveur d'ARN non codants régulateurs a pu être observé, comme les micro-ARN ou les petits ARN nucléolaires. De façon intéressante, plusieurs clones séquencés coïncidaient aussi avec des régions non annotées du génome, correspondant ainsi à de nouveaux petits ARN non-codants putatifs (Figure 8).

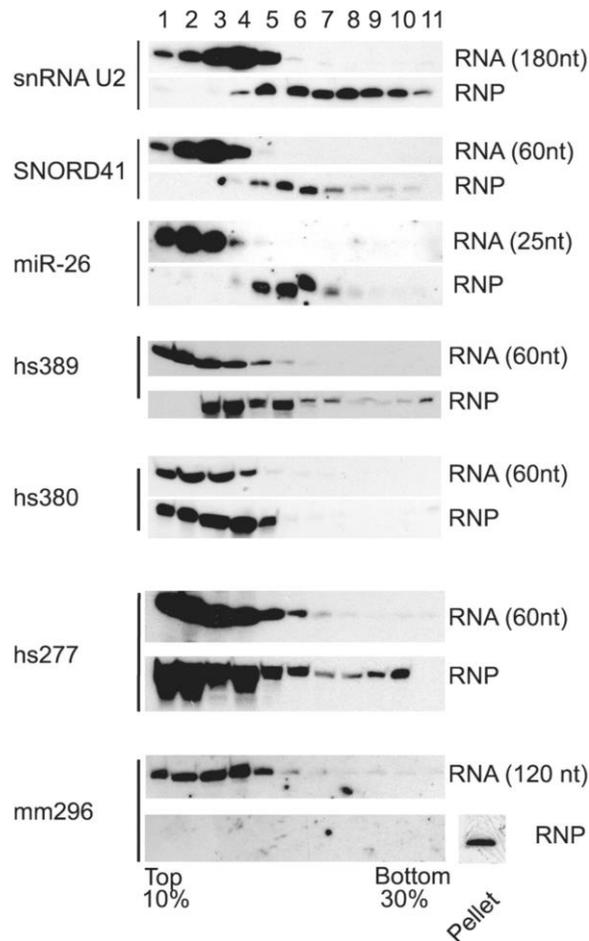


**Figure 8:** Distribution des séquences dans une banque RNP (a) et dans une banque cDNA classique (b).

En étudiant les séquences obtenues, on peut observer la disparition presque totale de contamination de la banque RNP par des ARNr, ainsi qu'un bon enrichissement vis-à-vis d'ARN régulateurs comme les micro-ARN ou des snoARN.

L'analyse des séquences dans une banque issue de cellules HeLa, et dans une banque préparée à partir de cerveaux de souris, a principalement révélé la présence d'ARN non-codants appartenant à des familles connues de molécules avec une répartition similaire des espèces séquencées entre les deux banques, à savoir plus de 90% des séquences totales correspondant aux microARN, ARN de transfert et petits ARN nucléaires ou nucléolaires (Mathieu Rederstorff et al. 2010) (Figure 8) (voir Section IV. C. 1)). Néanmoins, dans chacune des deux banques, des séquences identifiées dans les génomes de référence et correspondant à des régions non annotées, qui constituaient de possibles nouveaux ARN non-codants régulateurs, ont également été observées. Ces nouveaux candidats sont majoritairement retrouvés dans des régions intergéniques ou introniques du génome, où sont également trouvés de nombreux autres ARN non-codants bien caractérisés (miARN, snoARN).

L'expression de plusieurs candidats a été confirmée par des expériences de northern-blot, et il a été montré également que les candidats pouvaient adopter des structures secondaires stables (Mathieu Rederstorff et al. 2010). La validation de leur présence au sein de particules ribonucléoprotéiques a été vérifiée par des expériences de sédimentation sur gradient de glycérol, ce qui confirmait la validité de l'approche dans le but d'identifier de nouveaux ARN non-codants régulateurs fonctionnels (Figure 9).



**Figure 9:** Les ARN non-codants candidats identifiés sont bien présents au sein de particules ribonucléoprotéiques, comme visualisé par northern-blot après sédimentation d’extraits totaux sur gradient de glycérol. Des petits ARN nucléaire, nucléolaire ou un miARN sont utilisés comme témoins.

Cette approche de RNPomique, publiée initialement dans *Nucleic Acids Research* (Mathieu Rederstorff et al. 2010), a ensuite été publiée sous la forme d’un article méthodologique dans *Nature Protocols* (Mathieu Rederstorff and Hüttenhofer 2011). Elle a aussi été adaptée, comme par exemple chez les bactéries, par l’un de nos collaborateurs en Allemagne (Smirnov et al. 2016).

#### Articles relatifs :

**Mathieu Rederstorff\***, Stephan Bernhart, Andrea Tanzer, Marek Zywicki, Katrin Perfler, Melanie Lukasser, Ivo Hofacker, Alexander Hüttenhofer. RNPomics: Defining the ncRNA transcriptome by cDNA library generation from ribonucleo-protein particles. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2010, 38 (10), pp.e113 - e113. [10.1093/nar/gkq057](https://doi.org/10.1093/nar/gkq057). [hal-01716044](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716044). IF 19.16 (Q1)

**Mathieu Rederstorff\***, Alexander Hüttenhofer. cDNA library generation from ribonucleoprotein particles. *Nature Protocols*, Nature Publishing Group, 2011, 6 (2), pp.166 - 174. [10.1038/nprot.2010.186](https://doi.org/10.1038/nprot.2010.186). [hal-01703092](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01703092). IF 13.491 (Q1)

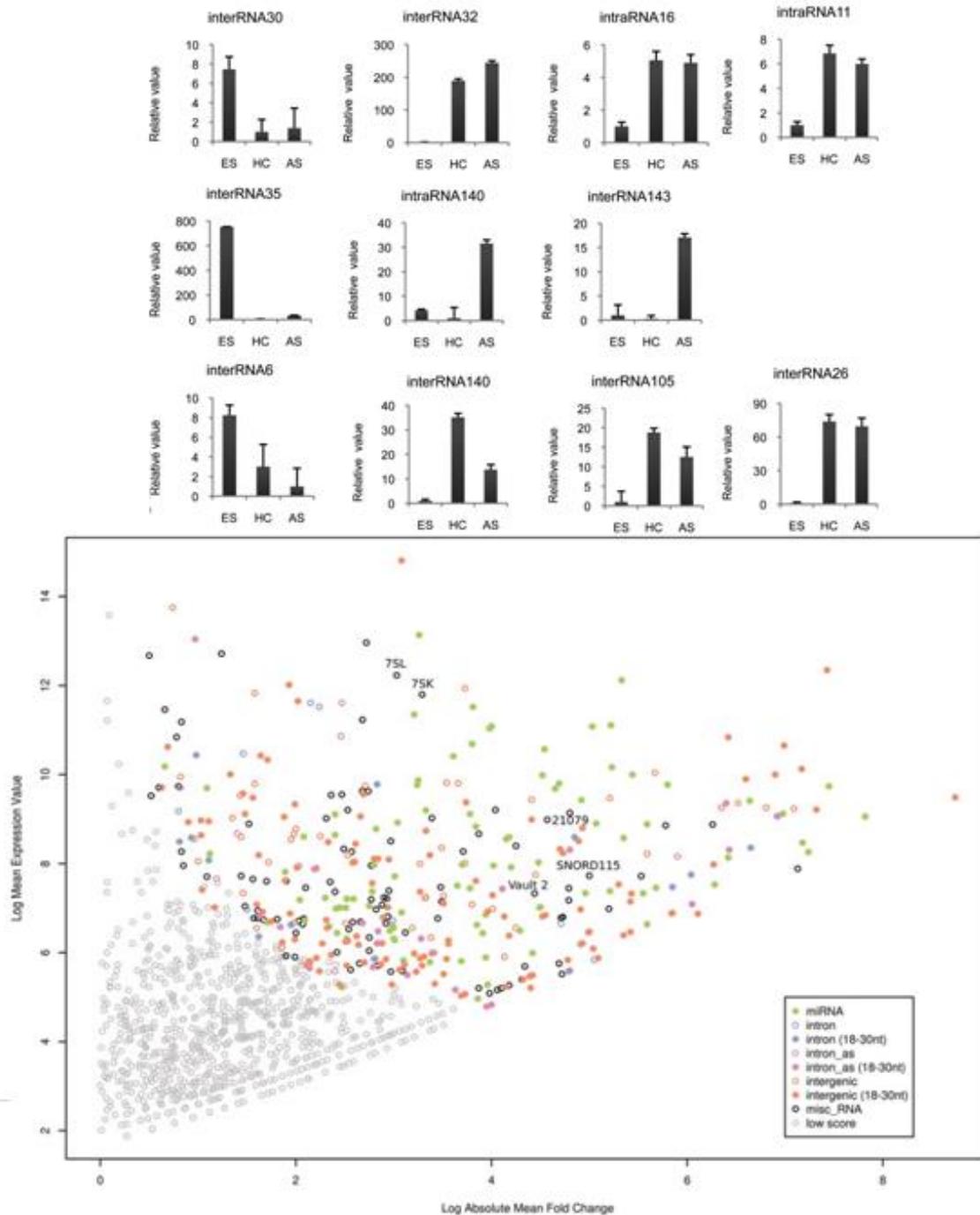
**Mathieu Rederstorff\***. Une approche originale de sélection de nouveaux ARN non codants. *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2011, 27 (4), pp.343 - 345. [10.1051/medsci/2011274003](https://doi.org/10.1051/medsci/2011274003). [hal-01716020](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716020). IF 0.818 (Q4)

**Mathieu Rederstorff\***. Generation of cDNA Libraries from RNP-Derived Regulatory Noncoding RNAs. *Methods in Molecular Biology; Genomic Imprinting: Methods and Protocols*, pp.211-218, 2012. (DOI: [10.1007/978-1-62703-011-3\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-011-3_14)) [hal-02271757](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02271757). IF 1.37 (Q4)

**Mathieu Rederstorff**, Alexander Hüttenhofer. Experimental RNomics, A Global Approach to Identify Non-coding RNAs in Model Organisms, and RNPomics to Analyze the Non-coding RNP Transcriptome. *Handbook of RNA Biochemistry*, 2011. ([10.1002/9783527647064.ch35](https://doi.org/10.1002/9783527647064.ch35)) [hal-03534663](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03534663)).

### **3) Identification d'ARN non-codants différenciellement exprimés au cours du développement neuronal.**

Cette méthode a par la suite également été utilisée par une étudiante en thèse que j'ai co-encadrée avec le Pr. Hüttenhofer, afin d'étudier les populations d'ARN non-codants exprimés au cours de la différenciation neuronale (Skreka et al. 2012), en séquençant à partir de banques RNP, les ARN présents dans des cellules souches embryonnaires, dans des précurseurs neuronaux et dans des cellules neuronales différenciées. En plus d'avoir permis d'observer que plusieurs ARN non-codants, tels que les ARN 7SL ou 7SK, ainsi que de nombreux miARN, étaient différenciellement exprimés au cours de la différenciation neuronale, cette étude a permis l'identification de plusieurs nouveaux ARN non-codants candidats (Skreka et al. 2012) (Figure 10). Outre le séquençage, l'expression différentielle de certains candidats aux différents stades de différenciation cellulaire a été confirmée par RT-qPCR (Figure 10). De manière intéressante, les candidats les plus abondamment exprimés sont aussi ceux pour lesquels l'expression différentielle est la plus importante, ce qui constitue un indice important quant à leur fonctionnalité au cours de la différenciation neuronale (Figure 10).



**Figure 10 :** Expression différentielle de nouveaux ARN non-codants candidats au cours de la différenciation neuronale. Haut : Analyse par qRT-PCR de l'expression de certains ARN non-codants candidats intergéniques (interRNA) ou introniques (intraRNA) dans des cellules souches embryonnaires (ES), des neurones primaires de l'hippocampe (HC) et des astrocytes (AS). Bas : Graphique représentant le taux de variation moyen en fonction du taux d'expression moyen des ARN non-codants dans les banques générées.

**Articles relatifs :**

Konstantinia Skreka, Marek Zywicki, Michael Karbiener, Alexander Hüttenhofer, Marcel Scheideler et **Mathieu Rederstorff\***. Expression Profiling of a Heterogeneous Population of ncRNAs Employing a Mixed DNA/LNA Microarray. *Journal of Nucleic Acids*, Hindawi Publishing Corporation, 2012, 2012, pp.1-10. [⟨10.1155/2012/283560⟩](https://doi.org/10.1155/2012/283560). [⟨hal-02934815⟩](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02934815). IF 2.5 (Q3)

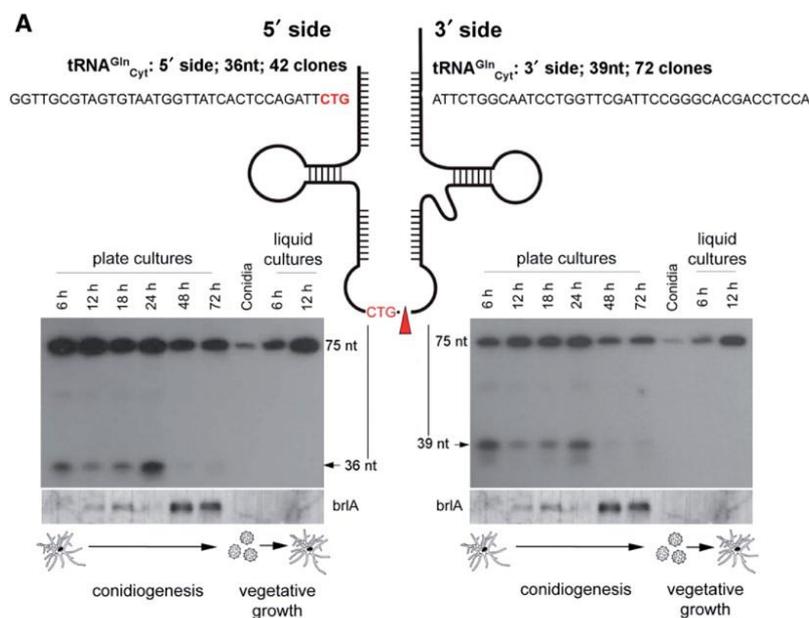
Konstantinia Skreka, Simon Schafferer, Irina-Roxanna Nat, Marek Zywicki, Ahmad Salti, Galina Apostolova, Matthias Griehl, **Mathieu Rederstorff**, Georg Dechant, Alexander Hüttenhofer. Identification of differentially expressed non-coding RNAs in embryonic stem cell neural differentiation. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2012, 40 (13), pp.6001 - 6015. [⟨10.1093/nar/gks311⟩](https://doi.org/10.1093/nar/gks311). [⟨hal-01716001⟩](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716001). IF 19.16 (Q1)

**4) Identification de fragments d'ARN de transfert (tRFs) chez le champignon pathogène *A. fumigatus*.**

Les infections causées par des champignons filamenteux constituent un risque majeur, notamment pour les patients immuno-déprimés. *Aspergillus fumigatus* est le champignon pathogène responsable de la majorité de ces infections, également appelées aspergilloses, et correspond au champignon microscopique le plus répandu dans l'air ambiant. En effet, on estime que chaque individu inhale plusieurs centaines de ses spores quotidiennement. Néanmoins, chez des personnes saines, ces spores sont rapidement éliminées par le système immunitaire.

Notre analyse des ARN non-codants issus d'une banque d'ADN complémentaire du fongique *A. fumigatus* a été l'une des premières à révéler, outre l'identification de nouveaux ARN non-codants candidats possibles (Jöchl et al. 2008), la présence de fragments d'ARN de transfert (tRF), correspondant à leurs extrémités 5'- ou 3'-terminales (Figure 11). La majorité des fragments 5'-terminaux contiennent l'anticodon de la molécule, alors que l'extrémité 5'- des fragments 3'-terminaux de l'ARN de transfert débutent avec la séquence directement située en aval de l'anticodon, indiquant un clivage dans la boucle de l'anticodon, directement en aval de celui-ci. Nous avons observé que ce clivage des ARN de transfert était régulé au cours du développement pendant la conidiogenèse, et que le phénomène n'était pas observé pour d'autres ARN non-codants, comme les ARNr ou les petits ARN nucléaires impliqués dans l'épissage, dont les abondances au cours des différents stades de développement du micro-organisme demeurent inchangées. Ce clivage entraîne ainsi une pause dans la synthèse protéique au niveau

des conidies, qui correspondent à des spores métaboliquement inactives, et pourrait ainsi constituer un nouveau moyen de régulation de la traduction. Un phénomène similaire est observé chez *E. coli* lors d'une infection phagique, et il a été montré depuis que le phénomène était observé également dans d'autres espèces, y compris eucaryotes (Houseley and Tollervey 2009; Thompson et al. 2008). On connaît dorénavant les nucléases responsables de ce type d'événements, il s'agit notamment de l'angiogénine (RNase 5) et de l'enzyme RNY1p (RNase T2) chez la levure (Thompson and Parker 2009). Bien qu'il ne semble s'agir ici que d'un moyen de réguler la traduction en conditions de croissance défavorables, on sait dorénavant que les tRF jouent des rôles également dans la régulation de la traduction, en ciblant, par exemple, des ARN messagers cibles au niveau de leur extrémité 3'- non-traduite, à l'instar des miARN (Kuscu et al. 2018).



**Figure 11 :** Séquences des demis-ARNt Glutamine cytoplasmique observés au cours des expériences de séquençage de banques d'ADNc. En northern-blot, la décroissance de signal pour l'ARN de pleine taille est observable entre 6 et 72h après passage en milieu solide, avec une décroissance maximale au stade conidie. Les demis ARNt sont observables entre 6 et 24 heures après passage en milieu solide. Au-delà de 24h, l'activité exonucléasique importante dans les conidies ne permet plus de les observer. Le marqueur *brlA* est utilisé comme témoin de conidiogénèse.

**Article relatif :**

Christoph Jöchl, **Mathieu Rederstorff**, Jana Hertel, Peter Stadler, Ivo Hofacker, Markus Schrettl, Hubertus Haas, Alexander Hüttenhofer. Small ncRNA transcriptome analysis from *Aspergillus fumigatus* suggests a novel mechanism for regulation of protein synthesis. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2008, 36 (8), pp.2677 - 2689. [10.1093/nar/gkn123](https://doi.org/10.1093/nar/gkn123). [hal-01716064](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01716064). IF 19.16 (Q1)

## **C. Principaux projets développés après mon recrutement à l'Université de Lorraine**

### **1) Introduction**

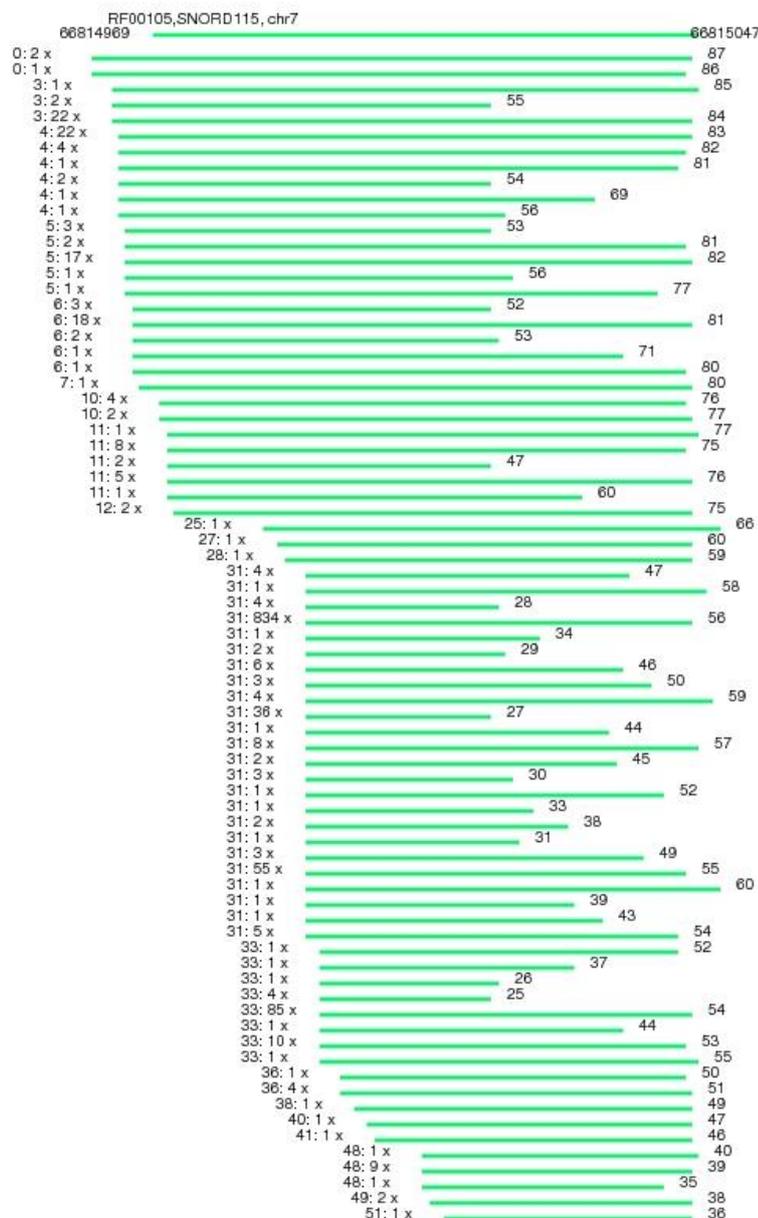
Le séquençage à haut-débit de banques d'ARN issues de cellules HeLa ou de cerveau de souris que j'ai réalisé au cours de mon post-doc à Innsbruck visait à identifier de nouveaux ARN non-codants candidats fonctionnels (Section IV. B. 2)). Ainsi, après annotation des séquences obtenues (Figure 8), nous ne nous sommes dans un premier temps intéressé qu'aux séquences non-annotées, les séquences correspondants à des snoARN ou à des miARN connus ayant été filtrées et mises de côté.

Toutefois, certains projets annexes du laboratoire étant consacrés à l'étude des snoARN SNORD-115 et -116, impliqués dans le syndrome de Prader-Willi (Cavaillé et al. 2001), nous avons par la suite regardé malgré tout, dans les banques d'ARN issus de cerveaux de souris, les séquences correspondants à ces deux ARN particuliers. De façon étonnante, pour ces deux snoARN bien caractérisés, la majorité des séquences observées dans nos banques ne correspondaient pas aux snoARN de pleine taille, mais plutôt à des espèces de tailles plus réduites, allant de 20 à une soixantaine de nucléotides, mais avec des extrémités bien définies, et qui ne correspondaient ainsi pas à de simples produits de dégradation (Mathieu Rederstorff et al. 2010) (Figure 12).

A la même période fût publiée la première description de petits ARN dérivés de snoARN précurseurs, appelés sdARN (ARN Dérivé de SnoARN) ou parfois sno-miARN (snomiR), révélés par des approches d'immunoprécipitation visant à identifier de nouveaux ARN associés à la protéine Ago2 (Ender et al. 2008). En plus du séquençage à haut-débit, plusieurs approches méthodologiques ont été employées pour valider et/ou visualiser ces petits ARN dérivés, notamment des northern-blot de haute sensibilité ou des expériences de protection à la RNase H. En collaboration avec le groupe de Stefan Stamm à l'Université du Kentucky, ceci a permis la publication d'un papier méthodologique décrivant le clonage facilité de petits ARN double-brins (Shen et al. 2011).

Une des thématiques fortes étudiées de longue date dans mon laboratoire d'accueil à l'Université de Lorraine consiste en l'étude de l'assemblage de particules ribonucléoprotéiques (RNP) complexes, telles que les snoRNP (Boulon et al. 2008; 2010). Dans le cadre de mon intégration au laboratoire, j'ai ainsi proposé un projet de recherche portant sur l'étude des mécanismes possibles de maturation des sdARN ou des snomiR à partir de précurseurs

snoARN, qui faisait ainsi le lien entre les thématiques du laboratoire, et une thématique que j'avais commencé à aborder lors de mon séjour postdoctoral. En plus de ce projet que j'ai initié, j'ai également poursuivi un sujet historique du laboratoire, à savoir l'étude de la snoRNP U3 impliquée dans la maturation de l'ARN ribosomique 18S chez la levure, notamment par le biais de l'étude de la protéine cœur spécifique de la snoRNP U3, la protéine Rrp9 chez la levure, ou 55 kD chez l'humain.

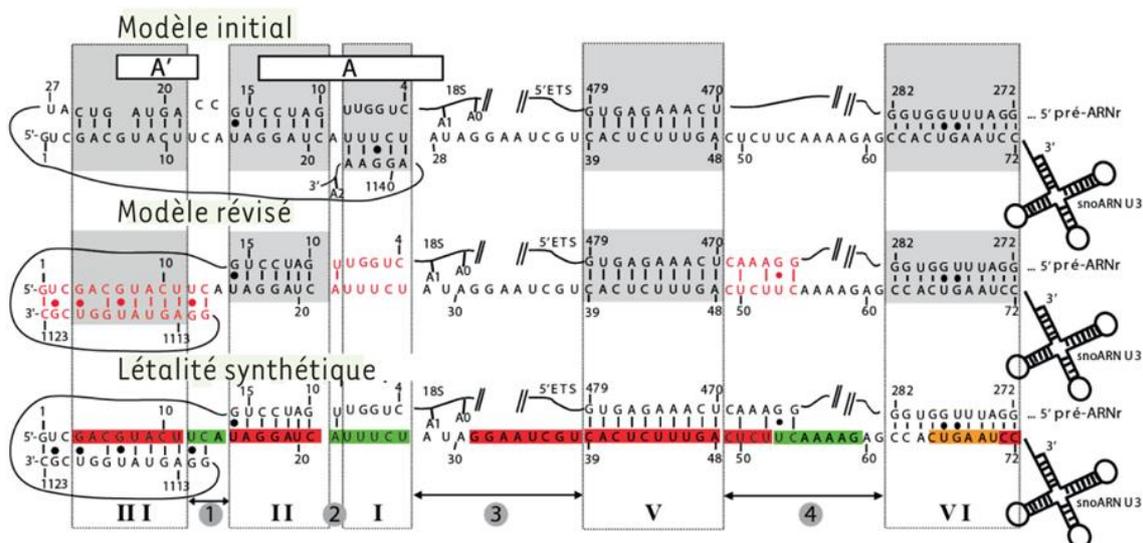


**Figure 12 :** Illustration des séquences correspondant au snoARN SNORD115 (MBII-52) observées à l'issue du séquençage à haut-débit d'une banque d'ADNc générée à partir de cerveaux de souris. La taille des fragments est indiquée à droite, et leur nombre à gauche. D'après (Mathieu Rederstorff et al. 2010), supplementary materials.

<https://www.tbi.univie.ac.at/papers/SUPPLEMENTS/454/Identification.html>

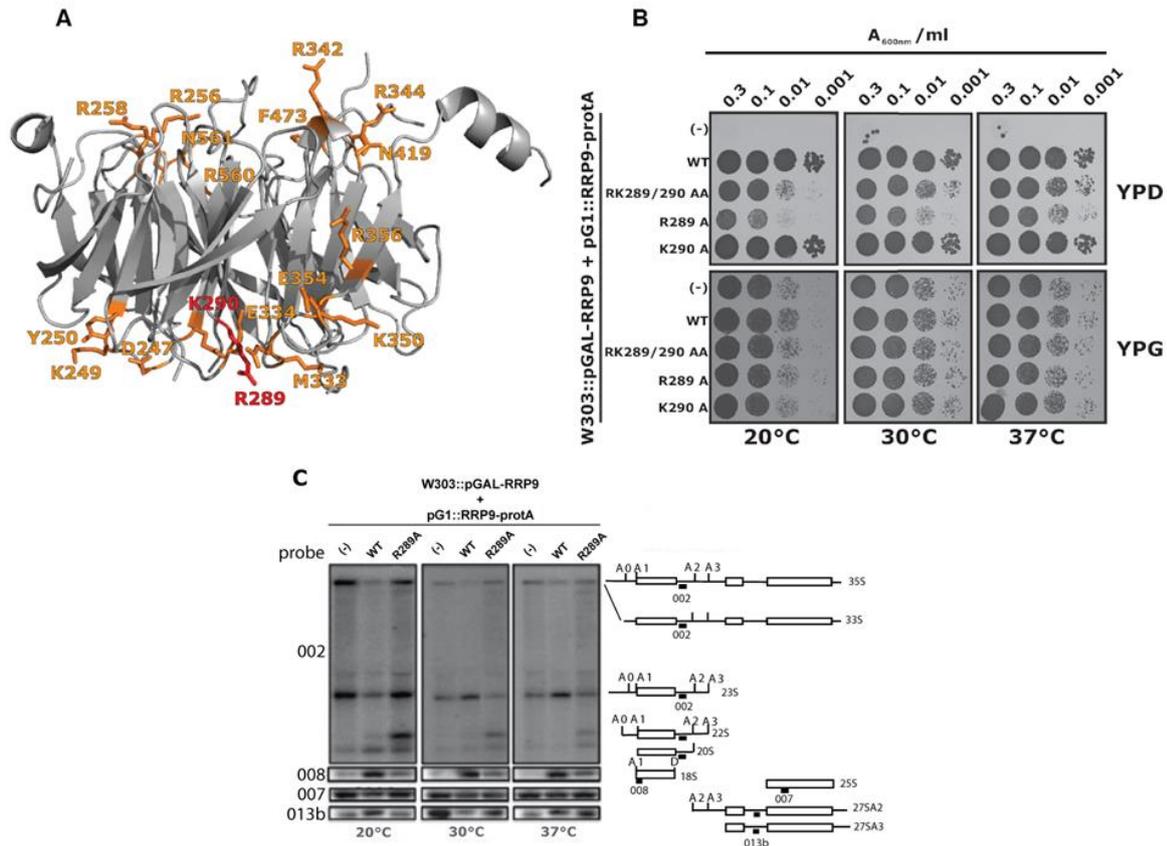
## 2) Etude de la protéine Rrp9 de la snoRNP U3 dans l'assemblage du processome et la maturation de l'ARN 18S de la petite sous-unité ribosomique chez la levure *C. cerevisiae*.

La snoRNP U3 est une particule ribonucléoprotéique faisant partie du complexe appelé processome, responsable de l'ensemble des étapes de maturation et d'assemblage conduisant à la formation de la petite sous-unité ribosomique 40S. La snoRNP U3 est constituée chez la levure du snoARN à boîtes C/D U3 et de protéines dites de cœur qui lui sont associées. Contrairement aux autres snoRNP de la famille C/D, la snoRNP U3 n'est pas impliquée dans la modification enzymatique (2'-O-méthylation) d'ARN cibles, mais dans les clivages précoces de l'ARN pré-ribosomique en A0, A1 et A2, permettant de libérer l'ARN 18S mature à partir du long précurseur 35S transcrit par l'ARN polymérase 1. En effet, ces 3 clivages précoces A0, A1 et A2 sont possibles grâce à l'appariement entre la région 5'-terminale du snoARN U3 d'une part et la région 5' du pré-ARN ribosomique 35S d'autre part, constitué des 5 hélices intermoléculaires I, II, III, V et VI (Figure 13 haut) (Beltrame and Tollervy 1995; Marmier-Gourrier et al. 2011). Un premier modèle d'appariement avait initialement été établi, révisé plus récemment grâce aux détermination successives de plus en plus précises de la structure du processome par cryo-microscopie électronique (Chaker-Margot et al. 2017; Sun et al. 2017; Kornprobst et al. 2016) (Figure 13 milieu).



**Figure 13 :** Appariement entre le snoARN U3 et le pré-ARN ribosomique 35S. Le modèle initial anticipait l'existence de 5 hélices intermoléculaires I, II, III, V et VI, séparées par les segments inter-hélices 1 à 4. Un modèle révisé, issu des données récentes obtenues par cryomicroscopie électronique, ont suggéré l'existence d'une hélice V étendue, l'absence d'hélice I et une hélice III formée avec une autre séquence du pré-ARN 18S (Modèle révisé en rouge). Nos expériences de mutagenèse du snoARNU3 confortent ce nouveau modèle, tandis que les résultats de létalité synthétique réalisés avec le mutant de Rrp9 indique son rôle crucial pour la formation et/ou la stabilisation des hélices II, III et V (Létalité synthétique en rouge) et VI dans une moindre mesure (orange). Les régions non affectées en présence du mutant de Rrp9 apparaissent en vert.

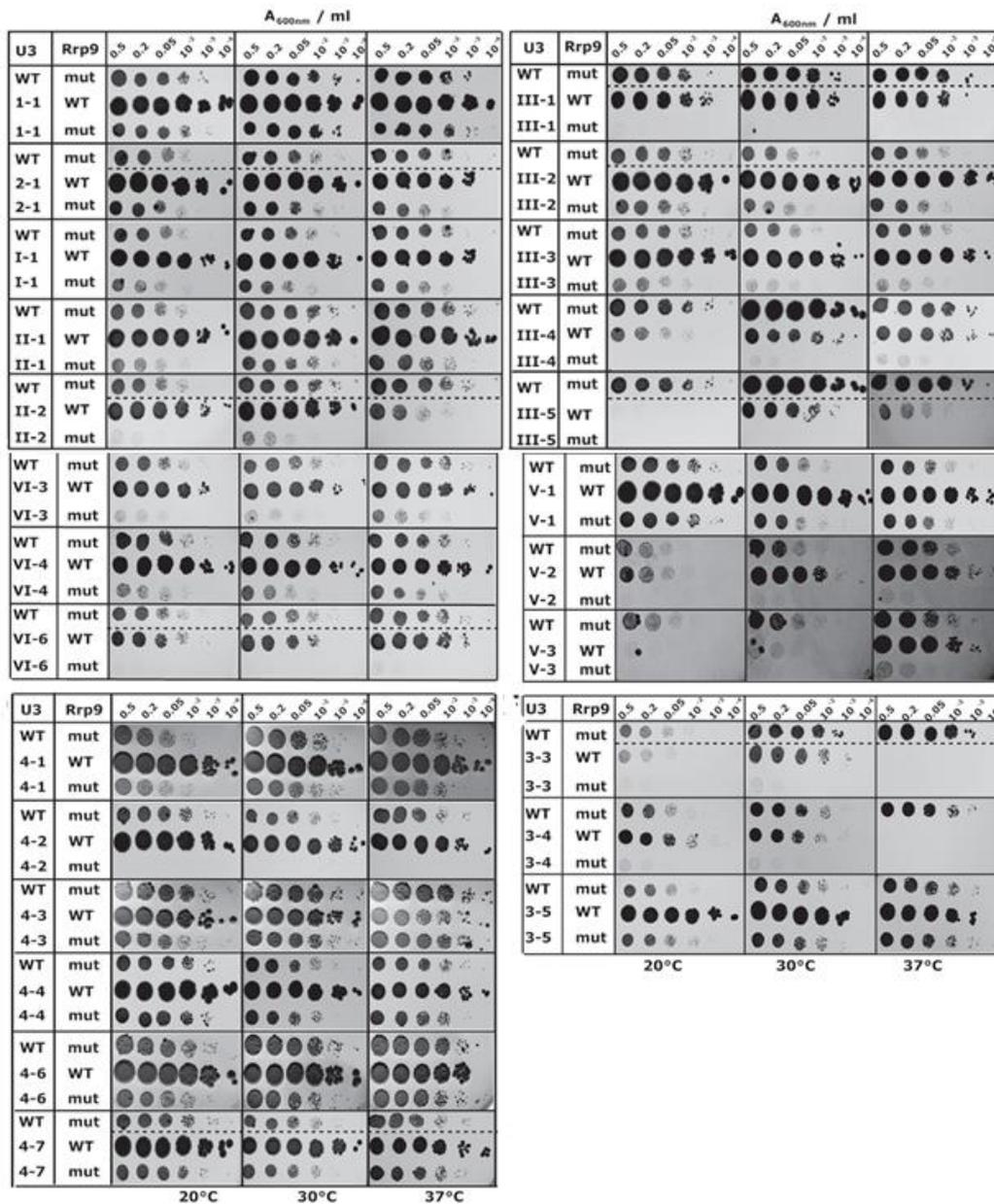
Dans le cadre de ce projet, le travail de Guillaume Clerget, que j'ai co-encadré pour sa thèse avec Christiane Branlant, a tout d'abord permis d'identifier un mutant inédit d'une protéine cœur spécifique constitutive de la snoRNP U3, la protéine Rrp9, conduisant à un défaut de croissance chez la levure (Figure 14). La protéine Rrp9 est une protéine de la famille WD40, puisqu'elle contient 7 motifs WD organisés en hélices- $\beta$  (Figure 14 A.), motifs généralement impliqués dans des interactions protéines-protéines. Christophe Charron au laboratoire avait modélisé la structure de la protéine Rrp9 chez la levure, pour nous permettre d'identifier les résidus de surface à muter pour initier notre recherche. La structure a entre temps été publiée par un group concurrent, mais a permis de confirmer notre modèle (Zhang, Lin, and Ye 2013). Seuls des résidus de surface ont été choisis pour la réalisation de la mutagenèse (Figure 14 A.). Parmi tous les mutants réalisés, seul le double-mutant R289A/K290A a conduit à un léger défaut de croissance, plus marqué à 20°C, la dissociation des deux mutations révélant par la suite que seul le résidu R289 était responsable du phénotype (Figure 14 B.). La caractérisation approfondie du mutant, notamment l'étude du profil de maturation des ARN ribosomiques, a ensuite permis de déterminer que la mutation provoquait un défaut d'accumulation de l'ARN 18S, associé à l'accumulation, en plus de l'ARN 35S, d'un précurseur aberrant, l'ARN 22S, issu d'un découplage du clivage précoce de l'ARN pré-ribosomique A0 des clivages A1 et A2 (Figure 14 C.). Cet intermédiaire 22S n'avait auparavant pu être observé qu'en présence de mutations empêchant la formation des hélices intermoléculaires II et III (Méreau et al. 1997; Sharma and Tollervey 1999).



**Figure 14 :** Identification et caractérisation du mutant R289A de Rrp9. A. Modèle de la structure tridimensionnelle de Rrp9 (Christophe Charron). Les résidus de surface mutés sont indiqués en orange, ainsi que les résidus K290 et R289, en rouge. B. Croissance de la souche W303::pGal-Rrp9 en milieu permissif galactose (YPG) ou répressif glucose (YPD), en présence des mutants de la protéine Rrp9 ou d'un plasmide vide. C. Northern-blot des différents ARN ribosomiques intermédiaires obtenu lors de la maturation du pré-ARN ribosomique 35S.

Ainsi, pour mieux comprendre l'implication possible de la protéine Rrp9 dans la formation et/ou la stabilisation de ces hélices intermoléculaires, nous nous sommes lancés dans un criblage synthétique létal de grande envergure, en combinant dans les levures la mutation R289A de Rrp9 à différents mutants des hélices ou segments de la région 5'-terminale du snoARN U3 (Figure 15, Figure 13 C.). L'étude des mutants du snoARN U3 a ainsi permis de confirmer la validité du modèle révisé proposé (Figure 13 milieu), et la combinaison avec le mutant de Rrp9 d'établir une cartographie des régions impactées par la mutation de la protéine (Figure 13 bas). De manière intéressante, on constate que Rrp9 ne stabilise pas uniquement les hélices intermoléculaires II et III, mais également les hélices V et VI, ou encore certains segments inter-hélices 3 et 4, situés entre les hélices I et V, et V et VI, respectivement. Il faut noter que cette implication de Rrp9 dans ces stabilisations est indirecte, puisque Rrp9 ne s'associe pas à U3 au niveau de son extrémité 5', mais au niveau de la boîte B/C, située dans la région 3' dite

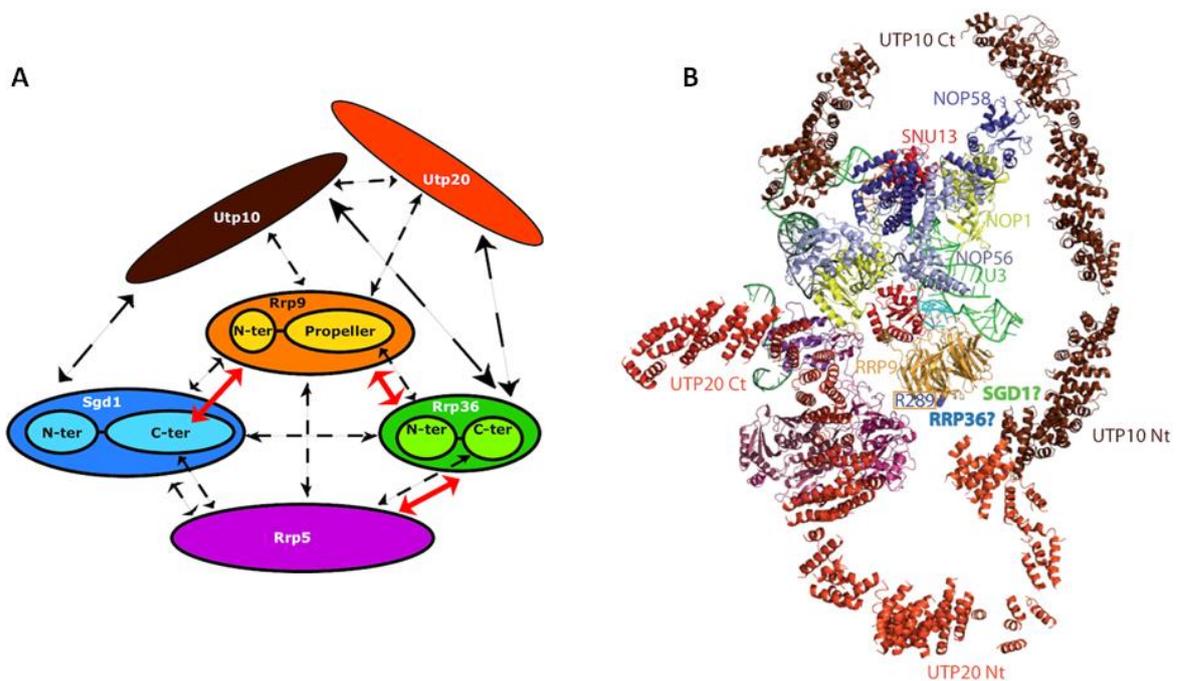
structurale du snoARN, ce qui est d'ailleurs bien observable au niveau des structures de cryomicroscopie électronique du processome publiées (Sun et al. 2017; Chaker-Margot et al. 2017).



**Figure 15 :** Caractérisation des mutants du snoARN U3 et de leur caractère synthétique létal avec la mutation R289A de la protéine Rrp9. Croissance des cellules transformées avec des versions sauvages ou mutées de la protéines Rrp9, en présence de versions sauvages ou mutées du snoARN U3 en milieu non-permissif.

Nous avons donc complété notre étude par un crible double-hybride réalisé chez la levure *S. cerevisiae*, afin de parfaire notre connaissance du réseau d'interaction protéine-protéine de Rrp9

au sein du processome. Nous avons ainsi pu identifier des nouveaux partenaires de Rrp9 au niveau du processome, ainsi que certains des domaines impliqués dans ces interactions (Figure 16 A.). Notamment, nous avons pu mettre en évidence l'association de Rrp9 à Utp10 du sous-complexe UtpA, ainsi qu'aux facteurs Utp20, Rrp5, Sgd1 et Rrp36. Par ailleurs, nous avons aussi observé que certaines de ces protéines étaient partenaires les unes des autres. De manière remarquable, les interactions entre Rrp9 et Sgd1 ou Rrp36 ont été identifiées comme étant directes, et l'interaction de Rrp9 avec Rrp36 est plus faible en présence du mutant de Rrp9.



**Figure 16 :** Le réseau d'interaction de la protéine Rrp9 au sein du processome. A. Les flèches en pointillé représentent les associations révélées en double-hybride, entre protéines ou domaines protéiques. Les flèches rouges représentent des interactions directes révélées par GST pull-down. B. Localisation possible des protéines Rrp36 et Sgd1, pour lesquelles nous avons identifié des interactions directes avec la protéine Rrp9, mais qui sont absentes des données de cryomicroscopie électronique. Les protéines de la snoRNP U3 sont représentées (Snu13, Nop1, Nop56, Nop58, Rrp9), ainsi que les protéines Rrp5, Utp10 et Utp20.

Au moment où je rédige ce manuscrit, les structures les plus récentes du processome obtenues ne permettent toutefois toujours pas de visualiser les protéines Rrp36 ou Sgd1 dans les densités électroniques, puisque leurs structures demeurent toujours indéterminées (Figure 16 B.) (Singh et al. 2021). La proposition de modèle que nous avons établi, sur la base de ces structures et de nos données d'interactomique centrée sur Rrp9, n'a ainsi pas encore pu être validée.

L'ensemble de ce travail, publié dans *Nucleic Acids Research*, a été réalisé en collaboration avec Denis Lafontaine, à l'Université Libre de Bruxelles, dans le laboratoire duquel Guillaume

Clerget a pu faire plusieurs séjours. Par ailleurs, ce travail avait été initié de longue date, pour ce qui concerne l'étude par mutagenèse du snoARN U3, dans le cadre d'une collaboration avec le groupe de David Tollervey à Edimbourg, collaboration qui a ainsi repris pour la finalisation du projet.

### **Collaborations :**

Denis Lafontaine, Université Libre de Bruxelles.

David Tollervey, Université d'Edinburgh.

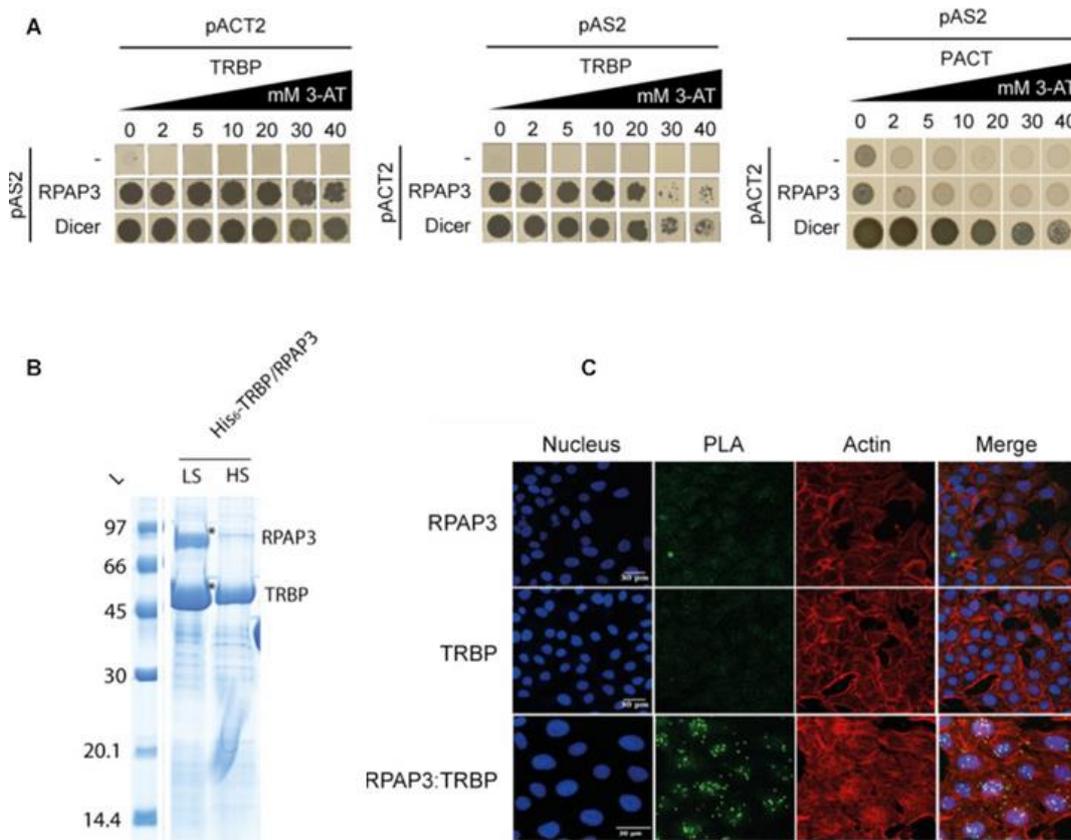
### **Articles relatifs :**

Guillaume Clerget, Valerie Bourguignon-Igel, Nathalie Marmier-Gourrier, Nicolas Rolland, Ludivine Wacheul, Xavier Manival, Christophe Charron, Joanna Kufel, Agnès Méreau, Véronique Senty-Ségault, David Tollervey, Denis Lafontaine, Christiane Branlant et **Mathieu Rederstorff\***. Synergistic defects in pre-rRNA processing from mutations in the U3-specific protein Rrp9 and U3 snoRNA. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2020, 48 (7), pp.3848-3868. [10.1093/nar/gkaa066](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa066). [hal-02615081](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02615081). IF 19.16 (Q1)

**Mathieu Rederstorff\***. Une mutation ponctuelle dans la protéine Rrp9 de la particule U3 entraîne un découplage des clivages précoces de l'ARN pré-ribosomique. *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2020, 36 (4), pp.329-331. [10.1051/medsci/2020054](https://doi.org/10.1051/medsci/2020054). [hal-02903934](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02903934). IF 0.818 (Q4)

### 3) Maturation des petits ARN dérivés de snoARN précurseurs (sdRNAs)

Comme mentionné en introduction de cette section IV. C., un second projet que j'ai proposé lors de mon recrutement visait à identifier des convergences entre les voies de maturation et d'assemblage des miRNPs et des snoRNPs, pouvant permettre de mieux comprendre les mécanismes de biogénèse des petits ARN dérivés de snoARN précurseurs. Pour cela, nous avons tout d'abord réalisé un crible double-hybride orienté chez la levure (Figure 17 A).



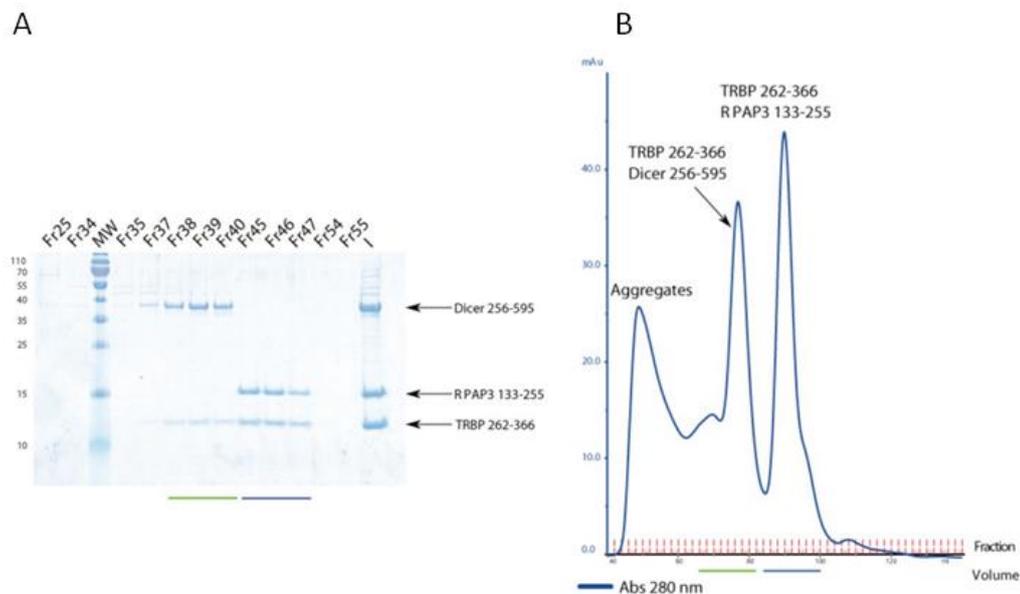
**Figure 17** : Caractérisation de l'interaction entre TRBP et RPAP3. A. Des expériences de double-hybride réalisées chez la levure *S. cerevisiae* ont révélé une association entre la protéine TRBP et la protéine RPAP3, dans les deux sens de croisement, aussi forte que l'interaction témoin entre TRBP et Dicer, comme le démontre la gamme de 3-amino triazole (3-AT). De manière intéressante, RPAP3 ne semble toutefois pas interagir avec la protéine PACT, homologue de TRBP. B. Co-expression chez *E. coli* et copurification du complexe TRBP/RPAP3. La protéine RPAP3 est retenue sur billes TALON avec la protéine TRBP en fusion avec une étiquette His-tag en position N-terminale. C. Expériences de Duo-Link, ou PLA (proximity ligation assay), permettant de visualiser l'interaction TRBP/RPAP3 *in cellula*.

Ce faisant, nous avons pu identifier une association entre la protéine RPAP3 du complexe d'assemblage des snoRNP R2TP, et la protéine TRBP, l'un des cofacteurs possibles de la RNase de type III Dicer (Figure 17 A.). L'association a été validée dans les cellules HeLa par

Duolink (Figure 17 C.), et son caractère direct déterminé par copurification d'affinité avec des protéines recombinantes (Figure 17 B.). Des expériences complémentaires nous ont ensuite permis de déterminer que c'était le domaine TPR1 de la protéine RPAP3 qui interagissait avec le domaine dsRBD3 de TRBP.

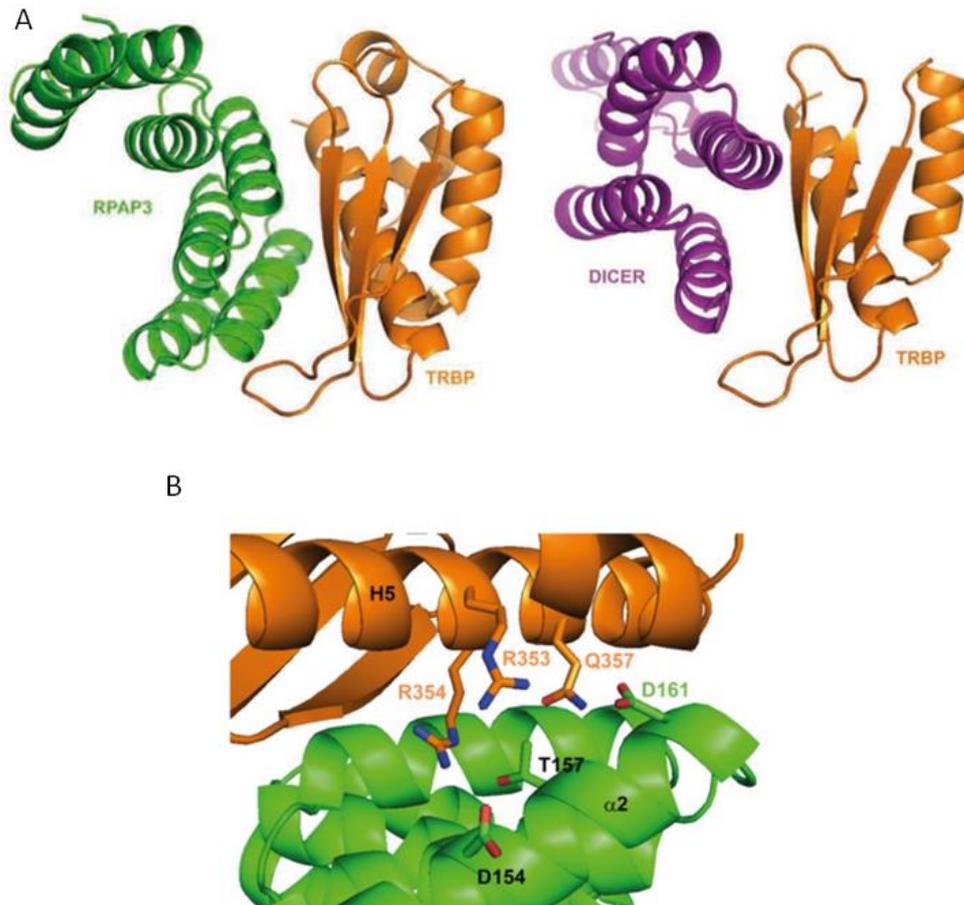
L'implication du domaine dsRBD3 de TRBP dans la mise en place de l'interaction était fortement anticipée, puisque ce troisième domaine dsRBD de TRBP, non canonique, est connu pour être impliqué dans l'interaction de TRBP avec ses partenaires protéiques plutôt qu'avec l'ARN, qui est reconnu par TRBP via ses deux premiers domaines dsRBD. C'est notamment ce troisième domaine qui est impliqué dans l'interaction entre TRBP et Dicer. C'est pourquoi nous avons souhaité vérifier l'existence d'un complexe à trois partenaires entre Dicer, TRBP et RPAP3, en réalisant une expérience de coexpression chez *E. coli*.

Celle-ci nous a permis d'observer la copurification, en présence d'une forme recombinante étiquetée du domaine dsRBD3 de TRBP, du domaine TPR1 de RPAP3 et du domaine de liaison à ses partenaires (PBD) de Dicer (Figure 18 A.). Par la suite, une chromatographie d'exclusion nous a permis de constater que c'étaient en fait deux complexes distincts qui étaient formés, entre TRBP et Dicer d'une part, et entre TRBP et RPAP3 d'autre part (Figure 18 B.). Cette seconde observation suggère la possibilité du caractère mutuellement exclusif de l'interaction de TRBP avec chacun des deux partenaires.



**Figure 18 :** Les interactions entre TRBP et RPAP3 et entre TRBP et Dicer sont mutuellement exclusives. A. Coexpression chez *E. coli* des domaines protéiques dsRBD3 de TRBP fusionné à une étiquette His-tag, TPR1 de RPAP3 et PBD de Dicer et copurification sur résine TALON. B. L'expérience de Gel-Filtration révèle l'existence de deux complexes distincts, entre TRBP et RPAP3 d'une part, et entre TRBP et Dicer d'autre part.

Nous avons ensuite déterminé la structure tridimensionnelle du complexe entre les domaines TPR1 de RPAP3 et le dsRBD3 de TRBP, par cristallogénèse et diffraction aux rayons-X, à une résolution de 1.5 Å (Figure 19).

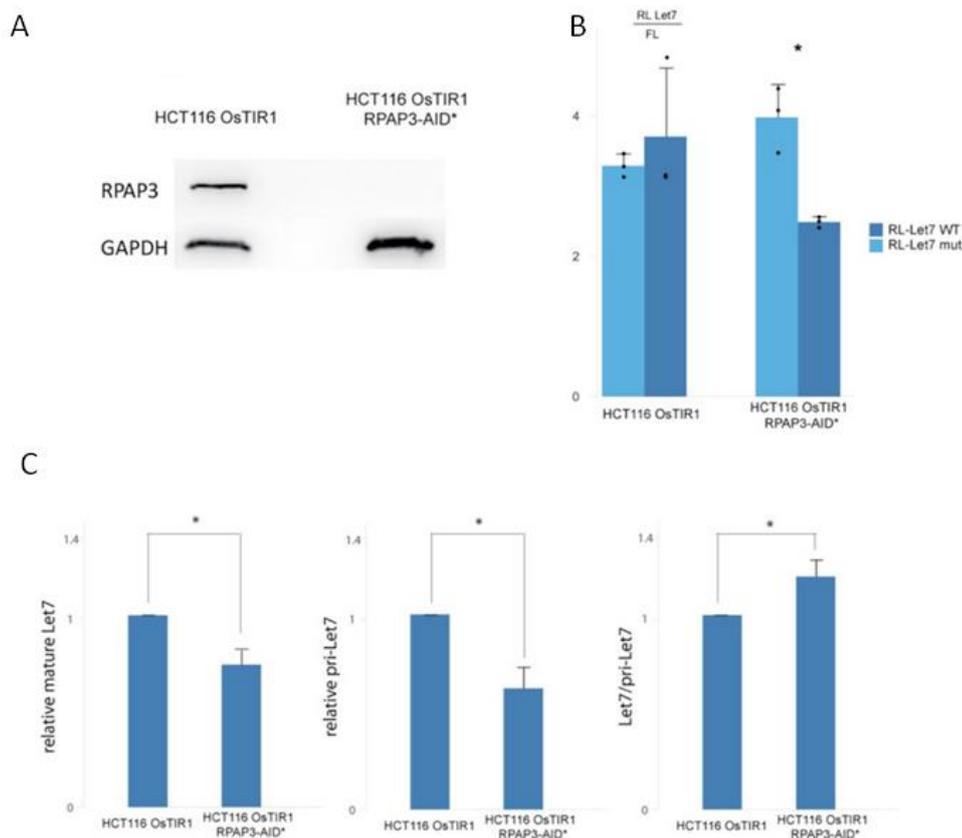


**Figure 19** : Structure tridimensionnelle du complexe TRBP/RPAP3. A. La structure du complexe entre le domaine dsRBD3 de TRBP et le TPR1 de RPAP3 a été résolue par cristallogénèse et diffraction aux rayons X, avec une résolution de 1.5Å. A gauche est représentée la structure de l'interface entre ce même dsRBD3 de TRBP et Dicer, d'après (Wilson et al. 2015) On observe que la même surface de TRBP est impliquée dans les deux interactions. B. Détail de l'interface entre TRBP et RPAP3. Les acides aminés identifiés comme importants pour la mise en place de l'interaction sont indiqués.

L'obtention de cette structure a permis d'observer que non seulement le dsRBD3 de TRBP était impliqué dans les deux interactions, comme déterminé précédemment, mais que c'était strictement la même surface du dsRBD3 qui était concernée dans les deux cas, validant l'hypothèse du caractère mutuellement exclusif des interactions, et suggérant ainsi une compétition possible entre RPAP3 et Dicer pour leur interaction avec TRBP. La structure à

haute résolution de l'interface d'interaction a également permis d'identifier les résidus cruciaux impliqués, qui ont été mutés pour poursuivre nos études structure/fonction. Ainsi, le résidu D161 de RPAP3, lorsqu'il est muté, ne permet plus l'interaction de la protéine avec TRBP. Il en est de même pour le mutant Q357A de TRBP, qui ne permet plus l'interaction avec RPAP3 alors qu'il interagit toujours avec Dicer, tandis que le mutant R354A entraîne la perte de l'interaction avec les deux partenaires de TRBP (Figure 19 B.).

Pour tenter de comprendre le rôle de l'interaction entre TRPB et RPAP3, et notamment identifier des fonctions de régulation possibles, en collaboration avec l'équipe d'Edouard Bertrand et Céline Verheggen à Montpellier, une lignée conditionnellement invalidée pour RPAP3 a été générée dans des cellules HCT-116, avec une stratégie employant un dégron inductible à l'auxine (AID\*), entraînant l'ubiquitinylation de la protéine et son adressage au protéasome (Figure 20 A.) (Abel et al. 2022; Morawska and Ulrich 2013).



**Figure 20 :** Influence de RPAP3 sur l'activité d'ARN interférence. A. Dans la lignée HCT116 OsTIR1 RPAP3-AID\*, en western-blot, le signal correspondant à RPAP3 disparaît totalement après induction à l'auxine, indiquant la dégradation totale de cette dernière. B. Expériences d'ARN interférence utilisant un ARNm rapporteur Rénilla Luciférase présentant 3 sites de liaison au miARN Let-7 endogène dans sa région 3'-UTR ou 3 sites mutés (Pillai et al. 2005). Dans la lignée déplétée en RPAP3, l'activité d'interférence est augmentée de l'ordre de 30%. C. Quantification par RT-qPCR du miARN Let-7 mature et son précurseur, dans les lignées contrôles ou dépourvues de RPAP3.

Pour déterminer si RPAP3 pouvait, via son interaction avec TRBP, avoir une influence sur l'activité des miARN, dans ces lignées, nous avons utilisé un ARNm rapporteur luciférase présentant des sites de reconnaissance pour le miARN Let-7 endogène au niveau de son extrémité 3'-UTR. Dans les lignées dépourvues de RPAP3, nous avons observé une augmentation de 30% du niveau de répression du rapporteur (Figure 20 B), ce qui semble indiquer pour RPAP3 une fonction inhibitrice de l'activité des miARN. Néanmoins, l'étape affectée par RPAP3 n'est pas déterminée, et pourrait affecter aussi bien une étape au cours de la maturation des miARN, qu'une étape ultérieure de leur activité. Pour commencer à répondre à cette question, nous avons voulu quantifier le miARN Let-7 et son précurseur dans ces lignées. Contre toute attente, nous avons constaté une quantité réduite de miARN Let-7 mature dans les lignées dépourvues de RPAP3, toutefois le ratio miARN mature/précurseur indique un niveau de maturation sensiblement plus élevé dans ces mêmes lignées (Figure 20 C.).

Cette observation est compatible avec celle d'une activité d'interférence supérieure dans les lignées AID-RPAP3, mais pas suffisante pour l'expliquer, puisque moins de miARN matures sont observés. Ces derniers doivent donc être plus efficaces quant à la mise en place de l'interférence sur l'ARNm ciblé, à une étape qu'il faudra déterminer et qu'il nous faudra tester à l'avenir (Voir section V. Description du projet de recherche).

Ce travail, qui a fait l'objet en partie de la thèse de Yoann Abel, que j'ai coencadré avec le Pr. Bruno Charpentier, a été publié dans *Nucleic Acids Research* en 2022, après une première soumission dans bioRxiv.

### **Collaborations :**

Edouard Bertrand, Céline Verheggen, Université de Montpellier, IGH.

### **Articles relatifs :**

Yoann Abel, Christophe Charron, Camille Virциglio, Valérie Bourguignon-Igel, Marc Quinternet, Marie-Eve Chagot, Céline Verheggen, Christiane Branlant, Edouard Bertrand, Xavier Manival, Bruno Charpentier et **Mathieu Rederstorff\***. The interaction between RPAP3 and TRBP reveals a possible involvement of the HSP90/R2TP chaperone complex in the regulation of miRNA activity. *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press, 2022, 50 (4), pp.2172-2189. [10.1093/nar/gkac086](https://doi.org/10.1093/nar/gkac086). [hal-03583324](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03583324). IF 19.16 (Q1)

Camille Virциglio, Xavier Manival, **Mathieu Rederstorff\***. Un nouveau mécanisme de contrôle de la maturation des microARN ? *médecine/sciences*, EDP Sciences, 2022, 38 (8-9), pp.629-631. [10.1051/medsci/2022089](https://doi.org/10.1051/medsci/2022089). [hal-03778840](https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03778840). IF 0.818 (Q4)

## V. **Projet de recherche**

Les résultats décrits précédemment (Section IV. C. 3)) ouvrent un certain nombre de perspectives d'études fonctionnelles quant aux rôles possibles de RPAP3 dans la régulation des activités de TRBP, qui font l'objet de ce projet. Parmi ces activités, comme déjà évoqué, TRBP est impliquée dans la maturation des miARN en tant que cofacteur de la RNase Dicer. Néanmoins, TRBP avait initialement été identifiée pour son interaction avec l'ARN génomique du virus de l'immunodéficience humaine (VIH). En effet, TRBP, dont le nom signifie TAR-RNA Binding Protein, se fixe à l'élément TAR (Transactivator Response) sur l'ARN génomique viral. Ce faisant, TRBP favorise la traduction des ARN viraux. Récemment, Y. Motorin au laboratoire a également montré que TRBP permettait le recrutement de la méthyltransférase cellulaire FTSJ3 au profit du virus, puisque les méthylations de l'ARN génomique du VIH le rendent moins détectable par le système immunitaire de l'hôte.

### **Résumé du projet de recherche :**

La protéine TRBP constitue un élément clé dans plusieurs mécanismes cellulaires, comme la maturation des miARN dans le cytoplasme par la RNase de type III Dicer, ou encore au cours de la réplication et de l'infection cellulaire par le virus VIH-1. Récemment, nous avons identifié un lien entre la protéine RPAP3, membre du complexe R2TP, et TRBP, qui interagissent ensemble de manière directe. Nos résultats préliminaires ont démontré par ailleurs que l'interaction entre TRBP et RPAP3 était mutuellement exclusive de celle entre TRBP et Dicer. Nous avons ainsi observé que RPAP3 pouvait moduler l'activité des miARN, probablement par un mécanisme de séquestration de TRBP et une compétition avec Dicer. En outre, d'autres résultats préliminaires indiquent un rôle possible pour RPAP3 dans la régulation de la traduction du VIH, en perturbant la liaison de TRBP à l'élément TAR sur l'ARN génomique du virus. Ce projet permettra donc de répondre à d'importantes questions concernant le rôle de RPAP3 dans la régulation des activités de TRBP.

## VI. Bibliographie

- Abel, Yoann, Christophe Charron, Camille Virciglio, Valérie Bourguignon-Igel, Marc Quinternet, Marie-Eve Chagot, Marie-Cécile Robert, et al. 2022. “The Interaction between RPAP3 and TRBP Reveals a Possible Involvement of the HSP90/R2TP Chaperone Complex in the Regulation of MiRNA Activity.” *Nucleic Acids Research* 50 (4): 2172–89. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac086>.
- Allmang, C., and A. Krol. 2006. “Selenoprotein Synthesis: UGA Does Not End the Story.” *Biochimie* 88 (11): 1561–71. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.04.015>.
- Allmang, Christine, Laurence Wurth, and Alain Krol. 2009. “The Selenium to Selenoprotein Pathway in Eukaryotes: More Molecular Partners than Anticipated.” *Biochimica Et Biophysica Acta* 1790 (11): 1415–23. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.03.003>.
- Arbogast, Sandrine, Maud Beuvin, Bodvaël Fraysse, Haiyan Zhou, Francesco Muntoni, and Ana Ferreiro. 2009. “Oxidative Stress in SEPNI-Related Myopathy: From Pathophysiology to Treatment.” *Annals of Neurology* 65 (6): 677–86. <https://doi.org/10.1002/ana.21644>.
- Bachelierie, Jean Pierre, Jérôme Cavaillé, and Alexander Hüttenhofer. 2002. “The Expanding SnoRNA World.” *Biochimie* 84 (8): 775–90. [https://doi.org/10.1016/s0300-9084\(02\)01402-5](https://doi.org/10.1016/s0300-9084(02)01402-5).
- Bartel, David P. 2004. “MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function.” *Cell* 116 (2): 281–97.
- Beltrame, M., and D. Tollervey. 1995. “Base Pairing between U3 and the Pre-Ribosomal RNA Is Required for 18S RRNA Synthesis.” *The EMBO Journal* 14 (17): 4350–56.
- Bonnerot, Claire, Lionel Pintard, and Georges Lutfalla. 2003. “Functional Redundancy of Spb1p and a SnR52-Dependent Mechanism for the 2'-O-Ribose Methylation of a Conserved RRNA Position in Yeast.” *Molecular Cell* 12 (5): 1309–15. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(03\)00435-0](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(03)00435-0).
- Boulon, Séverine, Nathalie Marmier-Gourrier, Bérengère Pradet-Balade, Laurence Wurth, Céline Verheggen, Beáta E. Jády, Benjamin Rothé, et al. 2008. “The Hsp90 Chaperone Controls the Biogenesis of L7Ae RNPs through Conserved Machinery.” *The Journal of Cell Biology* 180 (3): 579–95. <https://doi.org/10.1083/jcb.200708110>.
- Boulon, Séverine, Bérengère Pradet-Balade, Céline Verheggen, Dorothée Molle, Stéphanie Boireau, Marya Georgieva, Karim Azzag, et al. 2010. “HSP90 and Its R2TP/Prefoldin-like Cochaperone Are Involved in the Cytoplasmic Assembly of RNA Polymerase II.” *Molecular Cell* 39 (6): 912–24. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.08.023>.
- Casado-Bedmar, Maite, and Emilie Viennois. 2021. “MicroRNA and Gut Microbiota: Tiny but Mighty—Novel Insights into Their Cross-Talk in Inflammatory Bowel Disease Pathogenesis and Therapeutics.” *Journal of Crohn's & Colitis* 16 (6): 992–1005. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjab223>.
- Castets, Perrine, Anne T. Bertrand, Maud Beuvin, Arnaud Ferry, Fabien Le Grand, Marie Castets, Guillaume Chazot, et al. 2011. “Satellite Cell Loss and Impaired Muscle Regeneration in Selenoprotein N Deficiency.” *Human Molecular Genetics* 20 (4): 694–704. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq515>.
- Cavaillé, J., P. Vitali, E. Basyuk, A. Hüttenhofer, and J. P. Bachelierie. 2001. “A Novel Brain-Specific Box C/D Small Nucleolar RNA Processed from Tandemly Repeated Introns of a Noncoding RNA Gene in Rats.” *The Journal of Biological Chemistry* 276 (28): 26374–83. <https://doi.org/10.1074/jbc.M103544200>.
- Chaker-Margot, Malik, Jonas Barandun, Mirjam Hunziker, and Sebastian Klinge. 2017. “Architecture of the Yeast Small Subunit Processome.” *Science (New York, N.Y.)* 355 (6321). <https://doi.org/10.1126/science.aal1880>.
- Chernorudskiy, Alexander, Ersilia Varone, Sara Francesca Colombo, Stefano Fumagalli, Alfredo Cagnotto, Angela Cattaneo, Mickael Briens, et al. 2020. “Selenoprotein N Is an Endoplasmic Reticulum Calcium Sensor That Links Luminal Calcium Levels to a Redox Activity.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117 (35): 21288–98. <https://doi.org/10.1073/pnas.2003847117>.

- Chow, Jennifer C., Ziny Yen, Sonia M. Ziesche, and Carolyn J. Brown. 2005. "Silencing of the Mammalian X Chromosome." *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 6: 69–92. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.6.080604.162350>.
- Clarke, Nigel F., Warren Kidson, Susana Quijano-Roy, Brigitte Estournet, Ana Ferreira, Pascale Guicheney, James I. Manson, Andrew J. Kornberg, Lloyd K. Shield, and Kathryn N. North. 2006. "SEPN1: Associated with Congenital Fiber-Type Disproportion and Insulin Resistance." *Annals of Neurology* 59 (3): 546–52. <https://doi.org/10.1002/ana.20761>.
- Decombe, Alice, Priscila El Kazzi, and Etienne Decroly. 2023. "Interplay of RNA 2'-O-Methylations with Viral Replication." *Current Opinion in Virology* 59 (April): 101302. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2023.101302>.
- Defrasnes, Celine, Glenn A. Marsh, Chwan Hong Foo, Christina L. Rootes, Cathryn M. Gould, Julian Grusovin, Paul Monaghan, et al. 2016. "Genome-Wide SiRNA Screening at Biosafety Level 4 Reveals a Crucial Role for Fibrillarin in Henipavirus Infection." *PLoS Pathogens* 12 (3): e1005478. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005478>.
- Deniziak, Marzanna, Christine Thisse, Mathieu Rederstorff, Colette Hindelang, Bernard Thisse, and Alain Lescure. 2007. "Loss of Selenoprotein N Function Causes Disruption of Muscle Architecture in the Zebrafish Embryo." *Experimental Cell Research* 313 (1): 156–67. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2006.10.005>.
- Detilleux, Dylane, Peggy Raynaud, Berengere Pradet-Balade, and Dominique Helmlinger. 2022. "The TRRAP Transcription Cofactor Represses Interferon-Stimulated Genes in Colorectal Cancer Cells." *ELife* 11 (March): e69705. <https://doi.org/10.7554/eLife.69705>.
- Ding, Xavier C., Jan Weiler, and Helge Grosshans. 2009. "Regulating the Regulators: Mechanisms Controlling the Maturation of MicroRNAs." *Trends in Biotechnology* 27 (1): 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.09.006>.
- Dong, Zhi-Wei, Peng Shao, Li-Ting Diao, Hui Zhou, Chun-Hong Yu, and Liang-Hu Qu. 2012. "RTL-P: A Sensitive Approach for Detecting Sites of 2'-O-Methylation in RNA Molecules." *Nucleic Acids Research* 40 (20): e157. <https://doi.org/10.1093/nar/gks698>.
- Dorin, Dominique, Marion C. Bonnet, Sylvie Bannwarth, Anne Gatignol, Eliane F. Meurs, and Catherine Vaquero. 2003. "The TAR RNA-Binding Protein, TRBP, Stimulates the Expression of TAR-Containing RNAs in Vitro and in Vivo Independently of Its Ability to Inhibit the DsRNA-Dependent Kinase PKR." *The Journal of Biological Chemistry* 278 (7): 4440–48. <https://doi.org/10.1074/jbc.M208954200>.
- Eckwahl, Matthew J., Helene Arnion, Siarhei Kharytonchyk, Trinity Zang, Paul D. Bieniasz, Alice Telesnitsky, and Sandra L. Wolin. 2016. "Analysis of the Human Immunodeficiency Virus-1 RNA Packageome." *RNA (New York, N.Y.)* 22 (8): 1228–38. <https://doi.org/10.1261/rna.057299.116>.
- ENCODE Project Consortium, Ewan Birney, John A. Stamatoyannopoulos, Anindya Dutta, Roderic Guigó, Thomas R. Gingeras, Elliott H. Margulies, et al. 2007. "Identification and Analysis of Functional Elements in 1% of the Human Genome by the ENCODE Pilot Project." *Nature* 447 (7146): 799–816. <https://doi.org/10.1038/nature05874>.
- Ender, Christine, Azra Krek, Marc R. Friedländer, Michaela Beitzinger, Lasse Weinmann, Wei Chen, Sébastien Pfeffer, Nikolaus Rajewsky, and Gunter Meister. 2008. "A Human SnoRNA with MicroRNA-like Functions." *Molecular Cell* 32 (4): 519–28. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.10.017>.
- Ferreiro, Ana, Chantal Ceuterick-de Groote, Jared J. Marks, Nathalie Goemans, Gudrun Schreiber, Folker Hanefeld, Michel Fardeau, et al. 2004. "Desmin-Related Myopathy with Mallory Body-like Inclusions Is Caused by Mutations of the Selenoprotein N Gene." *Annals of Neurology* 55 (5): 676–86. <https://doi.org/10.1002/ana.20077>.
- Ferreiro, Ana, Susana Quijano-Roy, Claire Pichereau, Behzad Moghadaszadeh, Nathalie Goemans, Carsten Bönnemann, Heinz Jungbluth, et al. 2002. "Mutations of the Selenoprotein N Gene, Which Is Implicated in Rigid Spine Muscular Dystrophy, Cause the Classical Phenotype of Multiminicore Disease: Reassessing the

Nosology of Early-Onset Myopathies.” *American Journal of Human Genetics* 71 (4): 739–49.  
<https://doi.org/10.1086/342719>.

Filipe, Anne, Alexander Chernorudskiy, Sandrine Arbogast, Ersilia Varone, Rocío-Nur Villar-Quiles, Diego Pozzer, Maryline Moulin, et al. 2021. “Defective Endoplasmic Reticulum-Mitochondria Contacts and Bioenergetics in SEPN1-Related Myopathy.” *Cell Death and Differentiation* 28 (1): 123–38.  
<https://doi.org/10.1038/s41418-020-0587-z>.

Flohé, L., J. R. Andreesen, R. Brigelius-Flohé, M. Maiorino, and F. Ursini. 2000. “Selenium, the Element of the Moon, in Life on Earth.” *IUBMB Life* 49 (5): 411–20. <https://doi.org/10.1080/152165400410263>.

Håkansson, Kjell E. J., Eveline A. C. Goossens, Stella Trompet, Eva van Ingen, Margreet R. de Vries, Reginald V. C. T. van der Kwast, Rasmus S. Ripa, et al. 2019. “Genetic Associations and Regulation of Expression Indicate an Independent Role for 14q32 SnoRNAs in Human Cardiovascular Disease.” *Cardiovascular Research* 115 (10): 1519–32. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy309>.

Horejsí, Zuzana, Hiroyuki Takai, Carrie A. Adelman, Spencer J. Collis, Helen Flynn, Sarah Maslen, J. Mark Skehel, Titia de Lange, and Simon J. Boulton. 2010. “CK2 Phospho-Dependent Binding of R2TP Complex to TEL2 Is Essential for MTOR and SMG1 Stability.” *Molecular Cell* 39 (6): 839–50.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.08.037>.

Houseley, Jonathan, and David Tollervey. 2009. “The Many Pathways of RNA Degradation.” *Cell* 136 (4): 763–76. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.019>.

Hu, Shien, Lan Liu, Eugene B. Chang, Jian-Ying Wang, and Jean-Pierre Raufman. 2015. “Butyrate Inhibits Pro-Proliferative MiR-92a by Diminishing c-Myc-Induced MiR-17-92a Cluster Transcription in Human Colon Cancer Cells.” *Molecular Cancer* 14 (October): 180. <https://doi.org/10.1186/s12943-015-0450-x>.

Hüttenhofer, A., M. Kiefmann, S. Meier-Ewert, J. O’Brien, H. Lehrach, J. P. Bachellerie, and J. Brosius. 2001. “RNomics: An Experimental Approach That Identifies 201 Candidates for Novel, Small, Non-Messenger RNAs in Mouse.” *The EMBO Journal* 20 (11): 2943–53. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.11.2943>.

Hüttenhofer, Alexander, and Peter Schattner. 2006. “The Principles of Guiding by RNA: Chimeric RNA-Protein Enzymes.” *Nature Reviews. Genetics* 7 (6): 475–82. <https://doi.org/10.1038/nrg1855>.

Hüttenhofer, Alexander, Peter Schattner, and Norbert Polacek. 2005. “Non-Coding RNAs: Hope or Hype?” *Trends in Genetics: TIG* 21 (5): 289–97. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2005.03.007>.

Hüttenhofer, Alexander, and Jörg Vogel. 2006. “Experimental Approaches to Identify Non-Coding RNAs.” *Nucleic Acids Research* 34 (2): 635–46. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj469>.

Jöchl, Christoph, Mathieu Rederstorff, Jana Hertel, Peter F. Stadler, Ivo L. Hofacker, Markus Schrettl, Hubertus Haas, and Alexander Hüttenhofer. 2008. “Small ncRNA Transcriptome Analysis from *Aspergillus fumigatus* Suggests a Novel Mechanism for Regulation of Protein Synthesis.” *Nucleic Acids Research* 36 (8): 2677–89.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkn123>.

Kim, Sang Gyun, Gregory R. Hoffman, George Poulgiannis, Gwen R. Buel, Young Jin Jang, Ki Won Lee, Bo-Yeon Kim, et al. 2013. “Metabolic Stress Controls MTORC1 Lysosomal Localization and Dimerization by Regulating the TTT-RUVBL1/2 Complex.” *Molecular Cell* 49 (1): 172–85.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.10.003>.

Kirino, Yohei, and Zissimos Mourelatos. 2007. “Mouse Piwi-Interacting RNAs Are 2'-O-Methylated at Their 3' Termini.” *Nature Structural & Molecular Biology* 14 (4): 347–48. <https://doi.org/10.1038/nsmb1218>.

Komori, Chiaki, Tomoko Takahashi, Yuko Nakano, and Kumiko Ui-Tei. 2020. “TRBP-Dicer Interaction May Enhance HIV-1 TAR RNA Translation via TAR RNA Processing, Repressing Host-Cell Apoptosis.” *Biology Open* 9 (2). <https://doi.org/10.1242/bio.050435>.

Kornprobst, Markus, Martin Turk, Nikola Kellner, Jingdong Cheng, Dirk Flemming, Isabelle Koš-Braun, Martin Koš, et al. 2016. "Architecture of the 90S Pre-Ribosome: A Structural View on the Birth of the Eukaryotic Ribosome." *Cell* 166 (2): 380–93. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.014>.

Kryukov, Gregory V., Sergi Castellano, Sergey V. Novoselov, Alexey V. Lobanov, Omid Zehtab, Roderic Guigó, and Vadim N. Gladyshev. 2003. "Characterization of Mammalian Selenoproteomes." *Science (New York, N.Y.)* 300 (5624): 1439–43. <https://doi.org/10.1126/science.1083516>.

Kuscu, Canan, Pankaj Kumar, Manjari Kiran, Zhangli Su, Asrar Malik, and Anindya Dutta. 2018. "TRNA Fragments (TRFs) Guide Ago to Regulate Gene Expression Post-Transcriptionally in a Dicer-Independent Manner." *RNA* 24 (8): 1093–1105. <https://doi.org/10.1261/rna.066126.118>.

Kwast, Reginald V. C. T. van der, Eva van Ingen, Laura Parma, Hendrika A. B. Peters, Paul H. A. Quax, and A. Yaël Nossent. 2018. "Adenosine-to-Inosine Editing of MicroRNA-487b Alters Target Gene Selection After Ischemia and Promotes Neovascularization." *Circulation Research* 122 (3): 444–56. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.312345>.

Lescure, A., D. Gautheret, P. Carbon, and A. Krol. 1999. "Novel Selenoproteins Identified in Silico and in Vivo by Using a Conserved RNA Structural Motif." *The Journal of Biological Chemistry* 274 (53): 38147–54. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.53.38147>.

Lescure, Alain, Delphine Fagegaltier, Philippe Carbon, and Alain Krol. 2002. "Protein Factors Mediating Selenoprotein Synthesis." *Current Protein & Peptide Science* 3 (1): 143–51. <https://doi.org/10.2174/1389203023380783>.

Lescure, Alain, Mathieu Rederstorff, Alain Krol, Pascale Guicheney, and Valérie Allamand. 2009. "Selenoprotein Function and Muscle Disease." *Biochimica Et Biophysica Acta* 1790 (11): 1569–74. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.03.002>.

Li, Lifang, Jingxiong Ruan, Yanfen Ma, Xin Xu, Hao Qin, Xudong Tian, and Jian Hu. 2023. "Identification of Key Modules and Micro RNAs Associated with Colorectal Cancer via a Weighted Gene Co-Expression Network Analysis and Competing Endogenous RNA Network Analysis." *Journal of Gastrointestinal Oncology* 14 (3): 1320–30. <https://doi.org/10.21037/jgo-23-244>.

Liang, Hongwei, Zichen Jiao, Weiwei Rong, Shuang Qu, Zhicong Liao, Xinlei Sun, Yao Wei, et al. 2020. "3'-Terminal 2'-O-Methylation of Lung Cancer MiR-21-5p Enhances Its Stability and Association with Argonaute 2." *Nucleic Acids Research* 48 (13): 7027–40. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa504>.

Liu, Shirong, Andre Pires da Cunha, Rafael M. Rezende, Ron Cialic, Zhiyun Wei, Lynn Bry, Laurie E. Comstock, Roopali Gandhi, and Howard L. Weiner. 2016. "The Host Shapes the Gut Microbiota via Fecal MicroRNA." *Cell Host & Microbe* 19 (1): 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.12.005>.

Lobanov, Alexey V., Dolph L. Hatfield, and Vadim N. Gladyshev. 2009. "Eukaryotic Selenoproteins and Selenoproteomes." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, Special Issue: Selenoprotein Expression and Function, 1790 (11): 1424–28. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.05.014>.

Lung, Birgit, Anja Zemann, Monika J. Madej, Markus Schuelke, Sandra Techritz, Stephanie Ruf, Ralph Bock, and Alexander Hüttenhofer. 2006. "Identification of Small Non-Coding RNAs from Mitochondria and Chloroplasts." *Nucleic Acids Research* 34 (14): 3842–52. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl448>.

Macias, Sara, Mireya Plass, Agata Stajuda, Gracjan Michlewski, Eduardo Eyra, and Javier F. Cáceres. 2012. "DGCR8 HITS-CLIP Reveals Novel Functions for the Microprocessor." *Nature Structural & Molecular Biology* 19 (8): 760–66. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2344>.

Madej, Monika J., Juan D. Alfonzo, and Alexander Hüttenhofer. 2007. "Small NcRNA Transcriptome Analysis from Kinetoplast Mitochondria of *Leishmania Tarentolae*." *Nucleic Acids Research* 35 (5): 1544–54. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm004>.

- Madej, Monika J., Moritz Niemann, Alexander Hüttenhofer, and H. Ulrich Göringer. 2008. "Identification of Novel Guide RNAs from the Mitochondria of *Trypanosoma Brucei*." *RNA Biology* 5 (2): 84–91. <https://doi.org/10.4161/rna.5.2.6043>.
- Marchand, Virginie, Florence Blanloeil-Oillo, Mark Helm, and Yuri Motorin. 2016. "Illumina-Based RiboMethSeq Approach for Mapping of 2'-O-Me Residues in RNA." *Nucleic Acids Research* 44 (16): e135. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw547>.
- Marmier-Gourrier, Nathalie, Antoine Cléry, Florence Schlotter, Véronique Senty-Ségault, and Christiane Branlant. 2011. "A Second Base Pair Interaction between U3 Small Nucleolar RNA and the 5'-ETS Region Is Required for Early Cleavage of the Yeast Pre-Ribosomal RNA." *Nucleic Acids Research* 39 (22): 9731–45. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr675>.
- Maurizy, Chloé, Claire Abeza, Bénédicte Lemmers, Monica Gabola, Ciro Longobardi, Valérie Pinet, Marina Ferrand, et al. 2021. "The HSP90/R2TP Assembly Chaperone Promotes Cell Proliferation in the Intestinal Epithelium." *Nature Communications* 12 (August): 4810. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24792-4>.
- Méreau, A., R. Fournier, A. Grégoire, A. Mougin, P. Fabrizio, R. Lührmann, and C. Branlant. 1997. "An in Vivo and in Vitro Structure-Function Analysis of the *Saccharomyces Cerevisiae* U3A SnoRNP: Protein-RNA Contacts and Base-Pair Interaction with the Pre-Ribosomal RNA." *Journal of Molecular Biology* 273 (3): 552–71. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1320>.
- Moghadaszadeh, B., I. Desguerre, H. Topaloglu, F. Muntoni, S. Pavek, C. Sewry, M. Mayer, M. Fardeau, F. M. Tomé, and P. Guicheney. 1998. "Identification of a New Locus for a Peculiar Form of Congenital Muscular Dystrophy with Early Rigidity of the Spine, on Chromosome 1p35-36." *American Journal of Human Genetics* 62 (6): 1439–45. <https://doi.org/10.1086/301882>.
- Moghadaszadeh, B., N. Petit, C. Jaillard, M. Brockington, S. Quijano Roy, L. Merlini, N. Romero, et al. 2001. "Mutations in *SEPN1* Cause Congenital Muscular Dystrophy with Spinal Rigidity and Restrictive Respiratory Syndrome." *Nature Genetics* 29 (1): 17–18. <https://doi.org/10.1038/ng713>.
- Moratalla-Navarro, Ferran, Anna Díez-Villanueva, Ainhoa Garcia-Serrano, Adrià Closa, David Cordero, Xavier Solé, Elisabet Guinó, et al. 2023. "Identification of a Twelve-MicroRNA Signature with Prognostic Value in Stage II Microsatellite Stable Colon Cancer." *Cancers* 15 (13): 3301. <https://doi.org/10.3390/cancers15133301>.
- Morawska, Magdalena, and Helle D Ulrich. 2013. "An Expanded Tool Kit for the Auxin-Inducible Degron System in Budding Yeast." *Yeast (Chichester, England)* 30 (9): 341–51. <https://doi.org/10.1002/yea.2967>.
- Mrázek, Jan, Simone B. Kreutmayer, Friedrich A. Grässer, Norbert Polacek, and Alexander Hüttenhofer. 2007. "Subtractive Hybridization Identifies Novel Differentially Expressed ncRNA Species in EBV-Infected Human B Cells." *Nucleic Acids Research* 35 (10): e73. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm244>.
- Pandolfini, Luca, Isaia Barbieri, Andrew J. Bannister, Alan Hendrick, Byron Andrews, Natalie Webster, Pierre Murat, et al. 2019. "METTL1 Promotes Let-7 MicroRNA Processing via M7G Methylation." *Molecular Cell* 74 (6): 1278-1290.e9. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.03.040>.
- Paulson, Robert F., Shaneice Nettleford, Chang Liao, Yuanting Chen, Siyang Hao, Mireille Baltzinger, Mélanie Thami-Braye, Alain Lescure, and K. Sandeep Prabhu. 2018. "The Role of Selenoprotein N in the Differentiation of Erythroid Progenitors during Stress Erythropoiesis." [bioRxiv. https://doi.org/10.1101/506345](https://doi.org/10.1101/506345).
- Petit, Nathalie, Alain Lescure, Mathieu Rederstorff, Alain Krol, Behzad Moghadaszadeh, Ulla M. Wewer, and Pascale Guicheney. 2003. "Selenoprotein N: An Endoplasmic Reticulum Glycoprotein with an Early Developmental Expression Pattern." *Human Molecular Genetics* 12 (9): 1045–53. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddg115>.
- Pillai, Ramesh S., Suvendra N. Bhattacharyya, Caroline G. Artus, Tabea Zoller, Nicolas Cougot, Eugenia Basyuk, Edouard Bertrand, and Witold Filipowicz. 2005. "Inhibition of Translational Initiation by Let-7 MicroRNA in Human Cells." *Science (New York, N.Y.)* 309 (5740): 1573–76. <https://doi.org/10.1126/science.1115079>.

- Pös, Ondrej, Jakub Styk, Gergely Buglyó, Michal Zeman, Lydia Lukyova, Kamila Bernatova, Evelina Hrcakova Turnova, et al. 2023. “Cross-Kingdom Interaction of MiRNAs and Gut Microbiota with Non-Invasive Diagnostic and Therapeutic Implications in Colorectal Cancer.” *International Journal of Molecular Sciences* 24 (13): 10520. <https://doi.org/10.3390/ijms241310520>.
- Rederstorff, M., V. Allamand, P. Guicheney, C. Gartioux, P. Richard, D. Chaigne, A. Krol, and A. Lescure. 2008. “Ex Vivo Correction of Selenoprotein N Deficiency in Rigid Spine Muscular Dystrophy Caused by a Mutation in the Selenocysteine Codon.” *Nucleic Acids Research* 36 (1): 237–44. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm1033>.
- Rederstorff, M., A. Krol, and A. Lescure. 2006. “Understanding the Importance of Selenium and Selenoproteins in Muscle Function.” *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 63 (1): 52–59. <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5313-y>.
- Rederstorff, Mathieu. 2011. “[An original approach to enrich cDNA libraries with functional non-coding RNAs].” *Medecine Sciences: M/S* 27 (4): 343–45. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274003>.
- Rederstorff, Mathieu, Stephan H. Bernhart, Andrea Tanzer, Marek Zywicki, Katrin Perfler, Melanie Lukasser, Ivo L. Hofacker, and Alexander Hüttenhofer. 2010. “RNPomics: Defining the ncRNA Transcriptome by cDNA Library Generation from Ribonucleo-Protein Particles.” *Nucleic Acids Research* 38 (10): e113. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq057>.
- Rederstorff, Mathieu, Perrine Castets, Sandrine Arbogast, Jeanne Lainé, Stéphane Vassilopoulos, Maud Beuvin, Odile Dubourg, et al. 2011. “Increased Muscle Stress-Sensitivity Induced by Selenoprotein N Inactivation in Mouse: A Mammalian Model for SEPNI-Related Myopathy.” *PLoS One* 6 (8): e23094. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023094>.
- Rederstorff, Mathieu, and Alexander Hüttenhofer. 2011. “cDNA Library Generation from Ribonucleoprotein Particles.” *Nature Protocols* 6 (2): 166–74. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.186>.
- Ringard, Mathieu, Virginie Marchand, Etienne Decroly, Yuri Motorin, and Yamina Bennasser. 2019. “FTSJ3 Is an RNA 2'-O-Methyltransferase Recruited by HIV to Avoid Innate Immune Sensing.” *Nature* 565 (7740): 500–504. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0841-4>.
- Saito, Kuniaki, Yuriko Sakaguchi, Takeo Suzuki, Tsutomu Suzuki, Haruhiko Siomi, and Mikiko C. Siomi. 2007. “Pimet, the Drosophila Homolog of HEN1, Mediates 2'-O-Methylation of Piwi-Interacting RNAs at Their 3' Ends.” *Genes & Development* 21 (13): 1603–8. <https://doi.org/10.1101/gad.1563607>.
- Sharma, K., and D. Tollervy. 1999. “Base Pairing between U3 Small Nucleolar RNA and the 5' End of 18S rRNA Is Required for Pre-rRNA Processing.” *Molecular and Cellular Biology* 19 (9): 6012–19.
- Shen, Manli, Eduardo Eyras, Jie Wu, Amit Khanna, Serene Josiah, Mathieu Rederstorff, Michael Q. Zhang, and Stefan Stamm. 2011. “Direct Cloning of Double-Stranded RNAs from RNase Protection Analysis Reveals Processing Patterns of C/D Box snoRNAs and Provides Evidence for Widespread Antisense Transcript Expression.” *Nucleic Acids Research* 39 (22): 9720–30. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr684>.
- Singh, Sameer, Arnaud Vanden Broeck, Linamarie Miller, Malik Chaker-Margot, and Sebastian Klinge. 2021. “Nucleolar Maturation of the Human Small Subunit Processome.” *Science (New York, N.Y.)* 373 (6560): eabj5338. <https://doi.org/10.1126/science.abj5338>.
- Skreka, Konstantina, Simon Schafferer, Irina-Roxanna Nat, Marek Zywicki, Ahmad Salti, Galina Apostolova, Matthias Griehl, Mathieu Rederstorff, Georg Dechant, and Alexander Hüttenhofer. 2012. “Identification of Differentially Expressed Non-Coding RNAs in Embryonic Stem Cell Neural Differentiation.” *Nucleic Acids Research* 40 (13): 6001–15. <https://doi.org/10.1093/nar/gks311>.
- Smirnov, Alexandre, Konrad U. Förstner, Erik Holmqvist, Andreas Otto, Regina Günster, Dörte Becher, Richard Reinhardt, and Jörg Vogel. 2016. “Grad-Seq Guides the Discovery of ProQ as a Major Small RNA-Binding Protein.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113 (41): 11591–96. <https://doi.org/10.1073/pnas.1609981113>.

Stamm, Stefan, and J. Stephen Lodmell. 2019. "C/D Box SnoRNAs in Viral Infections: RNA Viruses Use Old Dogs for New Tricks." *Non-Coding RNA Research* 4 (2): 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2019.02.001>.

Sugimoto, Katsunori. 2018. "Branching the Tel2 Pathway for Exact Fit on Phosphatidylinositol 3-Kinase-Related Kinases." *Current Genetics* 64 (5): 965–70. <https://doi.org/10.1007/s00294-018-0817-9>.

Sun, Qi, Xing Zhu, Jia Qi, Weidong An, Pengfei Lan, Dan Tan, Rongchang Chen, et al. 2017. "Molecular Architecture of the 90S Small Subunit Pre-Ribosome." *ELife* 6 (February): e22086. <https://doi.org/10.7554/eLife.22086>.

Taft, Ryan J., Evgeny A. Glazov, Nicole Cloonan, Cas Simons, Stuart Stephen, Geoffrey J. Faulkner, Timo Lassmann, et al. 2009. "Tiny RNAs Associated with Transcription Start Sites in Animals." *Nature Genetics* 41 (5): 572–78. <https://doi.org/10.1038/ng.312>.

Thisse, Christine, Agnès Degrave, Gregory V. Kryukov, Vadim N. Gladyshev, Sophie Obrecht-Pflumio, Alain Krol, Bernard Thisse, and Alain Lescure. 2003. "Spatial and Temporal Expression Patterns of Selenoprotein Genes during Embryogenesis in Zebrafish." *Gene Expression Patterns: GEP* 3 (4): 525–32. [https://doi.org/10.1016/s1567-133x\(03\)00054-1](https://doi.org/10.1016/s1567-133x(03)00054-1).

Thompson, Debrah M., Cheng Lu, Pamela J. Green, and Roy Parker. 2008. "tRNA Cleavage Is a Conserved Response to Oxidative Stress in Eukaryotes." *RNA (New York, N.Y.)* 14 (10): 2095–2103. <https://doi.org/10.1261/rna.1232808>.

Thompson, Debrah M., and Roy Parker. 2009. "The RNase Rny1p Cleaves tRNAs and Promotes Cell Death during Oxidative Stress in *Saccharomyces Cerevisiae*." *Journal of Cell Biology* 185 (1): 43–50. <https://doi.org/10.1083/jcb.200811119>.

Viriciglio, Camille, Yoann Abel, and Mathieu Rederstorff. 2021. "Regulatory Non-Coding RNAs: An Overview." *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 2300: 3–9. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1386-3_1).

Wang, Nan, Shuang Qu, Wu Sun, Ziyi Zeng, Hongwei Liang, Chen-Yu Zhang, Xi Chen, and Ke Zen. 2018. "Direct Quantification of 3' Terminal 2'-O-Methylation of Small RNAs by RT-QPCR." *RNA (New York, N.Y.)* 24 (11): 1520–29. <https://doi.org/10.1261/rna.065144.117>.

Willingham, Aarron T., and Thomas R. Gingeras. 2006. "TUF Love for 'Junk' DNA." *Cell* 125 (7): 1215–20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.009>.

Wilson, Ross C., Akshay Tambe, Mary Anne Kidwell, Cameron L. Noland, Catherine P. Schneider, and Jennifer A. Doudna. 2015. "Dicer-TRBP Complex Formation Ensures Accurate Mammalian MicroRNA Biogenesis." *Molecular Cell* 57 (3): 397–407. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.11.030>.

Yang, Siwy Ling, Louis DeFalco, Danielle E. Anderson, Yu Zhang, Jong Ghut Ashley Aw, Su Ying Lim, Xin Ni Lim, et al. 2021. "Comprehensive Mapping of SARS-CoV-2 Interactions in Vivo Reveals Functional Virus-Host Interactions." *Nature Communications* 12 (1): 5113. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25357-1>.

Yang, Weidong, Thimmaiah P. Chendrimada, Qingde Wang, Miyoko Higuchi, Peter H. Seeburg, Ramin Shiekhattar, and Kazuko Nishikura. 2006. "Modulation of MicroRNA Processing and Expression through RNA Editing by ADAR Deaminases." *Nature Structural & Molecular Biology* 13 (1): 13–21. <https://doi.org/10.1038/nsmb1041>.

Yu, Bin, Zhiyong Yang, Junjie Li, Svetlana Minakhina, Maocheng Yang, Richard W. Padgett, Ruth Steward, and Xuemei Chen. 2005. "Methylation as a Crucial Step in Plant MicroRNA Biogenesis." *Science (New York, N.Y.)* 307 (5711): 932–35. <https://doi.org/10.1126/science.1107130>.

Zhang, Liman, Jinzhong Lin, and Keqiong Ye. 2013. "Structural and Functional Analysis of the U3 SnoRNA Binding Protein Rrp9." *RNA (New York, N.Y.)* 19 (5): 701–11. <https://doi.org/10.1261/rna.037580.112>.

## Résumés du projet

La protéine TRBP constitue un élément clé dans plusieurs mécanismes cellulaires, comme la maturation des miARN dans le cytoplasme par la RNase de type III Dicer, ou encore au cours de la réplication et de l'infection cellulaire par le virus VIH-1. Récemment, nous avons identifié un lien entre la protéine RPAP3, membre du complexe R2TP, et TRBP, qui interagissent ensemble de manière directe. Nos résultats préliminaires ont démontré par ailleurs que l'interaction entre TRBP et RPAP3 était mutuellement exclusive de celle entre TRBP et Dicer. Nous avons ainsi observé que RPAP3 pouvait moduler l'activité des miARN, probablement par un mécanisme de séquestration de TRBP et une compétition avec Dicer. En outre, d'autres résultats préliminaires indiquent un rôle possible pour RPAP3 dans la régulation de la traduction du VIH, en perturbant la liaison de TRBP à l'élément TAR sur l'ARN génomique du virus. Ce projet permettra donc de répondre à d'importantes questions concernant le rôle de RPAP3 dans la régulation des activités de TRBP.

**Mots-clés :** ARN non-codants, maturation des ARN, microARN, snoARN, assemblage des RNP, complexe R2TP, RPAP3, TRBP, VIH, traduction.

The TAR RNA Binding Protein (TRBP) is a key element in several pathways, including regulation of HIV-1 replication and infection, or miRNA maturation in the cytoplasm by the RNase III Dicer. For the first time, we identified a connection between the RNA Polymerase 2 Associated Protein 3 (RPAP3) of the R2TP complex and TRBP, which directly interact together. Our preliminary results showed that the interaction between TRBP and RPAP3 was mutually exclusive from that between TRBP and Dicer. We have consequently observed that RPAP3 could modulate miRNA function, probably through a TRBP sequestration mechanism and competition for Dicer binding. Preliminary results are also indicative of a possible role in regulation of HIV translation, through impaired binding of TRBP to the TAR element on the genomic RNA. Our project will therefore answer important questions regarding the role of RPAP3 in the regulation of TRBP activities. This is all the more so exciting and original as this connection between TRBP and RPAP3/R2TP has never been described, neither regarding the function of TRBP during HIV replication, nor regarding its role in miRNA processing.

**Keywords:** non-coding RNA, RNA maturation, microRNA, snoRNA, RNP assembly, R2TP complex, RPAP3, TRBP, HIV, translation.