

**Title: Coupling between transfer RNA maturation and ribosomal RNA processing in *B. subtilis*.**

**Abstract:**

Cellular protein synthesis both requires functional ribosomes and mature transfer RNAs (tRNAs) as adapter molecules. The ribosomes are large essential ribonucleoprotein complexes whose biogenesis accounts for most of cellular transcription and consumes a major portion of the cell's energy. Ribosome biogenesis is therefore tightly adjusted to the cellular needs and actively surveilled to rapidly degrade defective particles that could interfere with translation. Interestingly, tRNAs and ribosomal RNAs (rRNAs) are both transcribed from longer primary transcripts and universally require processing to become functional for translation. In this thesis, I have characterized a coupling mechanism between tRNA processing and ribosome biogenesis in the Gram-positive model organism *Bacillus subtilis*. Accumulation of immature tRNAs during tRNA maturase depletion, specifically abolishes 16S rRNA 3' processing by the endonuclease YqfG/YbeY, the last step in small ribosomal subunit formation. We showed that this maturation deficiency resulted from a late small subunit (30S) assembly defect coinciding with changes in expression of several key 30S assembly cofactors, mediated by both transcriptional and post-transcriptional effects. Interestingly, our results indicate that accumulation of immature tRNAs is sensed by the stringent factor RelA and triggers (p)ppGpp production. We showed that (p)ppGpp synthesis and the accompanying decrease in GTP levels inhibits 16S rRNA 3' processing, most likely by affecting GTPases involved in ribosome assembly. The inhibition of 16S rRNA 3' processing is thought to further lead to degradation of partially assembled particles by RNase R. Thus, we propose a model where RelA senses temporary slow-downs in tRNA maturation and this leads to an appropriate readjustment of ribosome biogenesis. This coupling mechanism would maintain the physiological balance between tRNAs and rRNAs, the two major components of the translation machinery.

**Keywords: tRNA maturation, rRNA maturation, ribosome biogenesis, (p)ppGpp, stringent response.**

## **Titre : Couplage entre maturation des ARN de transfert et maturation de l'ARN ribosomique chez *B. subtilis***

### **Résumé :**

La synthèse des protéines cellulaires requiert à la fois des ribosomes fonctionnels et des ARN de transfert (ARNt) matures comme molécules adaptatrices. Les ribosomes sont de larges complexes ribonucléoprotéiques dont la biogenèse représente la plupart de la transcription cellulaire et consomme une majeure partie de l'énergie de la cellule. Par conséquent, la biogenèse des ribosomes fait l'objet d'une régulation importante afin d'ajuster le nombre de ribosomes aux besoins de la cellule et de dégrader efficacement les particules défectueuses qui pourraient interférer avec la traduction. Les ARNs ribosomiques (ARNr) et les ARNt sont tous deux transcrits sous formes de précurseurs et sont universellement maturés pour devenir fonctionnels pour la traduction. Ce travail de thèse a permis de mettre en évidence un couplage entre la maturation des ARNt et la biogenèse des ribosomes chez la bactérie modèle à Gram positif *Bacillus subtilis*. Ainsi, l'accumulation d'ARNt immatures lors d'une déplétion en enzymes de maturation, abolit spécifiquement la maturation en 3' de l'ARNr 16S par l'endoribonucléase YqfG/YbeY, dernière étape dans la formation de la petite sous-unité ribosomique (30S). Nous avons mis en évidence que ce défaut de maturation résultait d'un défaut d'assemblage tardif du 30S coïncidant avec des changements d'expression de plusieurs facteurs d'assemblage du ribosome. Nous avons montré que cette modulation d'expression provenait d'effets transcriptionnel et post-transcriptionnel. De façon inédite, nos résultats indiquent que l'accumulation d'ARNt immatures est perçue par RelA (le facteur de la réponse stringente), déclenchant la production de (p)ppGpp. Nous avons observé que cette synthèse de (p)ppGpp et la baisse concomitante des niveaux de GTP cellulaire, inhibe la maturation de l'ARNr 16S en 3', probablement *via* un blocage des GTPases impliquées dans l'assemblage des ribosomes. L'inhibition de la maturation de l'ARNr 16S côté 3' est supposée conduire, par la suite, à une dégradation des particules partiellement assemblées par la RNase R. Ainsi, nos résultats supportent un modèle où RelA jouerait un rôle central ; en percevant une déficience de maturation des ARNt et en ajustant, en conséquence, la biogenèse des ribosomes *via* la production de (p)ppGpp. Ce mécanisme de couplage permettrait de maintenir un équilibre fonctionnel entre ARNt et ARNr, les deux composants majeurs de la machinerie de traduction.

**Mots clefs : maturation des ARNt, maturation des ARNr, biogenèse des ribosomes, (p)ppGpp, réponse stringente.**