

## DÉCHIFFRER LE "CODE OPR" POUR UNE MEILLEURE COMPRÉHENSION DU RÔLE PHYSIOLOGIQUE DES PROTÉINES OPR.

### RÉSUMÉ

À la suite de l'endosymbiose, le génome chloroplastique a rétréci et dépend maintenant du génome nucléaire pour son expression. Chez *Chlamydomonas reinhardtii*, les protéines Octotricopeptide repeat (OPR), codées dans le noyau, contrôlent l'expression d'ARNm chloroplastiques spécifiques. La répétition OPR est un motif dégénéré de 38 acides aminés, qui forme un tandem d'hélices  $\alpha$  antiparallèles qui lient l'ARN. Une répétition OPR est prédite pour interagir avec un nucléotide spécifique grâce à des résidus variables à des positions précises. La succession de répétitions permet aux protéines OPR de se lier à une séquence donnée.

En partant d'un « code OPR » théorique, j'ai cherché à étudier cette spécificité de reconnaissance. J'ai mute *in vivo* les cibles chloroplastiques de facteurs OPR pour empêcher l'interaction OPR/ARN, puis j'ai tenté de la restaurer en mutant les résidus conférant la spécificité dans les répétitions correspondantes. Étonnamment, les interactions OPR/ARN sont très résilientes, ce qui a complètement changé notre vision de ces interactions *in vivo*. Des études fonctionnelles complémentaires que j'ai réalisées sur les facteurs OPR MDB1 and MTH11 ont révélé que l'expression des gènes chloroplastiques dépend probablement de systèmes de facteurs nucléaires. En coopérant ces facteurs auraient une affinité combinée plus forte et seraient ainsi plus résilients.

## DECIPHERING THE "OPR CODE" TO FURTHER ASSESS THE PHYSIOLOGICAL ROLE OF OPR PROTEINS.

### ABSTRACT

Following endosymbiosis, the chloroplast genome shrunk and became reliant on the host genome for its expression. In *Chlamydomonas reinhardtii*, Octotricopeptide repeat proteins (OPR), encoded in the nucleus, control the expression of a specific organellar mRNA. The OPR repeat is a degenerate motif of 38 amino-acids, folding into a tandem of antiparallel  $\alpha$ -helices which can bind to RNA. An individual OPR repeat is predicted to interact with one given nucleotide thanks to specificity-conferring residues at defined positions within the repeat. OPR proteins contain tracks of successive OPR motifs, thus they can bind to a specific RNA "target" sequence and act on it.

I aimed to study this specificity, called the "OPR code", starting with a draft code based on known OPR protein/mRNA couples. I mutated *in vivo* the chloroplast targets of some OPR factors to disrupt the OPR/RNA interaction, and then tried to restore it by mutating the specificity-conferring residues in the corresponding repeats. Surprisingly, OPR/RNA interactions seem very resilient, challenging our view of how the specificity is established *in vivo*. Complementary functional studies that I performed on the OPR factors MDB1 and MTH11 revealed that chloroplast gene expression might rely on complex networks of nuclear factors. By cooperating those putative systems would be both more specific and more resilient.