

## Contrôle de l'expression génétique par des ARN non-codants chez *E. coli*

Groupe « Contrôle par l'ARN de l'expression génétique »

Maude Guillier et Eliane Hajnsdorf

[Maude.Guillier@ibpc.fr](mailto:Maude.Guillier@ibpc.fr) et [Eliane.Hajnsdorf@ibpc.fr](mailto:Eliane.Hajnsdorf@ibpc.fr)

CNRS UPR9073

Les premiers ARN régulateurs (ARNnc) ont été découverts chez les bactéries. Des centaines d'entre eux ont ensuite été identifiés dans de très nombreuses classes d'organismes eucaryotes qui ne représentent encore probablement qu'une petite fraction des ARN qui interviennent dans la régulation de l'expression des gènes. Leurs fonctions, dans les rares cas où elles ont été comprises, ont mis en évidence des réseaux de régulation complexes qui coordonnent, par exemple, l'expression de gènes impliqués dans le développement des cellules eucaryotes, l'adaptation aux modifications des conditions environnementales et aux stress de différentes natures. Les fonctions cellulaires des ARNnc restent cependant encore très largement inconnues. Les quelques exemples étudiés à ce jour montrent que ces ARNnc agissent fréquemment de manière posttranscriptionnelle, en modifiant la traduction et/ou la stabilité des ARNm. L'expression du gène est, selon les cas, réprimée ou activée, suite à la reconnaissance de la région de démarrage de la traduction des transcrits procaryotes ou de la région 3' non traduite des ARNm eucaryotes, le plus souvent.

Dans le groupe « Contrôle par l'ARN de l'expression génétique », nous nous intéressons à la régulation de l'expression génétique par des ARN antisens chez l'organisme modèle *Escherichia coli*, pour lequel nous disposons non seulement de vastes connaissances sur les ARNnc, mais aussi des outils de la génétique, de la biologie moléculaire. Les ARN antisens sont conservés dans l'arbre phylogénétique et leur structure est bien définie. Le plus souvent, ils permettent à la bactérie de répondre à divers stress ou changements des conditions de croissance, en régulant au niveau post-transcriptionnel l'expression de gènes impliqués dans la réponse et l'adaptation à ces stress.

Ces ARN non codants peuvent être codés sur le brin complémentaire au brin codant, "en face" de leur ARNm cible avec lequel ils forment un hybride parfait. Les exemples les plus connus de ces RNA se trouvent sur des éléments mobiles comme les plasmides, phages ou transposons, et seuls quelques-uns ont été identifiés par hasard sur le chromosome bactérien, comme les toxine-antitoxine de type I. Des données récentes issues des approches de recherche du génome entier, indiquent que la plupart des génomes bactériens expriment de faibles quantités d'ARN antisens mal définis, qui rappellent les CUTs (Cryptic Unstable Transcripts) nucléaires des eucaryotes, qui peuvent affecter la transcription, la traduction et la stabilité des messagers.

Cependant, les ARN non codants peuvent aussi être transcrits à partir de sites éloignés des gènes cibles. Dans ce cas, ils forment souvent avec leur cibles des hybrides imparfaits dont la formation est facilitée par une chaperone moléculaire, la protéine Hfq. Il faut noter qu'un même ARN régulateur peut moduler l'expression de plusieurs ARNm, de même l'expression d'un même ARNm peut être régulée par divers ARN non codants.

Dans ce projet nous proposons dans un premier temps d'étudier des exemples spécifiques de régulation par des ARN antisens, qui sont soit parfaitement soit imparfaitement complémentaires à leurs cibles. Dans un deuxième temps, nous analyserons le transcriptome d'un mutant d'un facteur impliqué dans la dégradation des ARNnc pour rechercher des ARNnc non encore identifiés et étudier les plus prometteurs d'entre eux

i) Approches mécanistiques.

- Régulation de l'expression génétique des protéines de la membrane externe

Nous nous intéresserons notamment à la régulation par deux ARN redondants de multiples cibles codant pour des protéines de membrane externe ou encore pour des régulateurs de la synthèse d'appendices de membrane comme les curli ou les flagelles, ainsi que pour leur propre régulateur. En particulier, nous nous pencherons sur des cibles où nous savons que le mécanisme de régulation ne suit pas le modèle canonique de compétition avec le ribosome. Nous étudierons aussi le rôle et l'importance de l'autocontrôle de ces ARN sur l'expression de leurs cibles.

- Régulation de l'expression génétique d'une protéine de stockage du ribosome

Le facteur Rmf est une protéine abondante, impliquée dans la formation de dimères du ribosome, qui sont une forme de stockage du ribosome en phase stationnaire. Rmf s'accumule lors de la transition de la phase exponentielle à la phase stationnaire. L'ARNm *rmf* est stable en phase stationnaire mais est immédiatement déstabilisé après dilution de la culture dans un milieu frais. Cette déstabilisation est inhibée par l'addition de la rifampicine. Ceci indique que la synthèse *de novo* d'un ARN serait nécessaire pour cette dégradation rapide. En accord avec cette hypothèse, nous avons détecté qu'un ARN antisens au messenger *rmf* est transcrit à partir du brin complémentaire immédiatement après la dilution des bactéries ainsi qu'en phase exponentielle de croissance. Il faudra déterminer s'il y a une corrélation entre la dégradation de l'ARNm *rmf* et la synthèse de cet antisens, et s'il s'agit d'une régulation intervenant au niveau de la transcription (occlusion transcriptionnelle) ou de la dégradation des ARN.

ii) Approche globale : l'étude du transcriptome de *E. coli*

La polyadénylation est une modification post-transcriptionnelle universelle qui affecte profondément la stabilité des ARN. Découverte chez les eucaryotes, où elle contribue à l'export des ARNm vers le cytoplasme, elle favorise la stabilité de l'ARNm et la traduction. La polyadénylation a aussi une fonction de déstabilisation des ARN qui est conservée chez les bactéries, les organelles et les noyaux chez les eucaryotes. La polyadénylation est impliquée dans la dégradation des ARNnc qu'ils régulent l'expression de cibles localisées sur le brin complémentaire (ARN I, CopA, Sok et ARN-OUT codés par des plasmides, des phages, et des transposons) ou à distance sur le génome (GlmY). La comparaison du transcriptome d'une souche sauvage ou déficiente pour la poly(A) polymérase permettra d'identifier des ARNnc qui auraient échappé aux approches bioinformatiques (tel l'ARN antisens de *rmf*) qui ciblaient essentiellement les régions non codantes et étaient basées sur la phylogénie et la recherche de promoteurs et de terminateurs (séquençage en cours). Nous choisirons les ARNnc les plus prometteurs dont il conviendra de valider l'existence, identifier la cible, étudier le métabolisme et le mode d'action

Ce travail aboutira à une meilleure connaissance des réseaux de régulation qui permettent à la cellule de s'adapter à son environnement. Il donnera également des informations sur la complexité et la diversité des interactions ARNnc régulateurs-ARN cibles et les modes de régulation qui en découlent (transcriptionnelle, posttranscriptionnelles au niveau de la traduction ou de la stabilité des ARNm).

Références bibliographiques en rapport avec le projet

- Régnier, Ph. & Hajnsdorf, E. (2013) The interplay of Hfq, poly(A) polymerase I and exoribonucleases at the 3' ends of RNAs resulting from Rho-independent termination: a tentative model. *RNA Biology* 10(4)
- Mandin P. and Guillier M., (2013), Expanding control in bacteria: interplay between small RNAs and transcriptional regulators to control gene expression, *Current Opinion in Microbiology*, 16(2): 125-32.

- Busi, F., Le Dérout, J., Cerciat, M., Régnier, Ph. & Hajnsdorf, E. (2010) Is the secondary putative RNA-RNA interaction site relevant to GcvB mediated regulation of oppA mRNA in *Escherichia coli*? *Biochimie* 92, 1458-1461.
- Coornaert A., Chiaruttini C., Springer M. and Guillier M., (2013), Post-transcriptional control of the *Escherichia coli* PhoQ-PhoP two-component system by multiple sRNAs involves a novel pairing region of GcvB, *PLoS Genetics*, **9**:e1003156.
- Coornaert A., Lu A., Mandin P., Springer M., Gottesman S. and Guillier M., (2010) MicA sRNA links the PhoP regulon to cell envelope stress, *Mol. Microbiol.*, 76(2) : 467-79.
- Reichenbach, B., Maes, A., Kalamorz, F., Hajnsdorf, E. & Görke, B. (2008) The small RNA GlmY acts upstream of the sRNA GlmZ in the activation of glmS expression and is subject to regulation by polyadenylation in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res.* 36, 2570–2580.