

## Thèse : Flore SINTUREL

### Résumé

Chez *S. cerevisiae*, le facteur Dcs1 clive la coiffe des ARN messagers issus de la voie de dégradation 3'-5'. De manière indépendante, Dcs1 facilite l'activité de l'exoribonucléase 5'-3' cytoplasmique Xrn1. Contrairement aux modèles établis, nous montrons que ce contrôle sur Xrn1 est indépendant de l'activité catalytique de Dcs1. Nous observons que Dcs1 augmente l'affinité apparente de Xrn1 pour l'ARN et forme un complexe transitoire avec Xrn1 *in vitro*.

La présence de Dcs1 est requise pour la croissance sur glycérol et nous nous sommes interrogés sur l'importance dans ce phénomène de l'activation de Xrn1 par Dcs1. Nous démontrons qu'un mutant catalytique de Xrn1 est incapable de croître sur ce milieu. L'expression de Rat1, l'homologue nucléaire de Xrn1, dirigé dans le cytoplasme, restaure cependant la croissance sur glycérol. Une activité exoribonucléolytique 5'-3' cytoplasmique est donc essentielle pour la croissance sur glycérol. Nous avons analysé l'effet d'une inhibition de l'activité de Xrn1 par l'analyse de gels de protéine 2D. Nous observons qu'un groupe de protéines diminue en quantité dans une souche mutée *dcs1dcs2*. De manière remarquable, certaines de ces protéines, essentielles pour la respiration cellulaire, sont aussi retrouvées en quantité moindre dans un mutant *xrn1*. L'analyse d'un candidat, *POR1* codant la porine mitochondriale, a permis de vérifier l'impact de la voie de dégradation 5'-3' sur l'expression de l'ARNm et de la protéine correspondante. Le maintien de l'activité de dégradation de Xrn1 par les facteurs Dcs est ainsi essentiel pour la respiration et explique l'absence de croissance sur glycérol de ces mutants. Nous proposons donc que l'activité de Xrn1 contrôle l'accumulation d'ARN inhibant directement ou indirectement, l'expression de facteurs nécessaires à la réalisation des fonctions mitochondriales.

### Abstract

The decapping factor of short RNA, Dcs1, has been shown to facilitate 5'-3' RNA decay by controlling the activity of the cytoplasmic 5'-3' exoribonuclease Xrn1 in *S. cerevisiae*. Contrary to previous models, we show that the catalytic activity of Dcs1 is not responsible for this regulation.

We observe that Dcs1 enhances the apparent affinity of Xrn1 for RNA substrates and potentially forms a transitory complex with Xrn1 *in vitro*. Regulation of Xrn1 by Dcs1 may be important at the physiological level because both *dcs1* deletion mutants and *xrn1* catalytic mutants are necessary for growth on glycerol medium. Expression of Rat1, the nuclear homologue of Xrn1 targeted to the cytoplasm, rescues growth on glycerol. Therefore the 5'-3' exoribonuclease cytoplasmic activity *per se* is important for growth on glycerol and the activation of Xrn1 by Dcs1 is critical for the cell under these conditions. In fact, Xrn1 is inactive for mRNA degradation in the absence of Dcs1. We examined the biological significance of this regulation by performing 2-D gel protein analysis under conditions of inhibition of Xrn1 activity. Interestingly, a set of proteins showing decreased levels in a *dcs1 dcs2* deletion strain, some essential for respiration, are systematically decreased in an *xrn1* deletion mutant. This result easily explains the growth defect observed in these mutants on non-fermentable carbon sources. We confirmed the importance of the 5'-3' degradation pathway for mRNA and protein expressions of one particular candidate, the mitochondrial porin, Por1. Therefore we propose that one role of Dcs1 factor is to maintain cellular functions, such as respiration, through Xrn1 activity. We propose that Xrn1 degrades RNAs that potentially inhibit the expression of mitochondrial factors either directly or indirectly.