HAL open science

Un nouveau mécanisme de contrôle de la maturation des microARN ?

Camille Virciglio, Xavier Manival, Mathieu Rederstorff

▶ **To cite this version:**

Camille Virciglio, Xavier Manival, Mathieu Rederstorff. Un nouveau mécanisme de contrôle de la maturation des microARN ?. Médecine/Sciences, 2022, 38 (8-9), pp.629-631. 10.1051/medsci/2022089 . hal-03778840

HAL Id: hal-03778840

https://hal.science/hal-03778840v1

Submitted on 16 Sep 2022

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.

Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

NOUVELLE

Un nouveau mécanisme de contrôle de la maturation des microARN ?

Camille Virciglio, Xavier Manival, Mathieu Rederstorff

Université de Lorraine, CNRS, IMoPA, F-54000 Nancy, France
mathieu.rederstorff@univ-lorraine.fr

> La régulation de l'expression des gènes comprend une multitude de mécanismes pouvant cibler chacune des étapes depuis la transcription des ARN à partir de l'ADN génomique et leur maturation, jusqu'à la traduction des ARN messagers (ARNm) en protéines. Au cœur de ces mécanismes, les ARN non-codants (ARNnc), longs ou petits, jouent très souvent un rôle crucial [1] (➜).

(➜) Voir la Synthèse de Y. Abel *et al.*, *m/s* n° 3, mars 2014, page 297

Les microARN (miARN), de taille comprise entre 19 et 25 nucléotides, constituent une classe majeure de petits ARN impliqués dans la régulation post-transcriptionnelle de l'expression des gènes [2] (➜) : les miARN, au sein du complexe RISC (*RNA induced silencing complex*), en s'appariant à la région 3' non-traduite (3'-UTR) des ARNm ciblés, inhibent leur traduction et provoquent ensuite leur dégradation [3] (➜).

(➜) Voir la Synthèse de L. Fressigné et M.J. Simard *et al.*, *m/s* n° 2, février 2018, page 137

(➜) Voir le Repères de F. Dautry et C. Ribet, m/s n° 8-9, août-septembre 2004, page 815

La protéine TRBP (*TAR-RNA binding protein*) joue un rôle essentiel dans la biogenèse des miARN [4]. En effet, une fois le transcrit primaire clivé par la ribonucléase nucléaire (RNase) de type III Drosha accompagnée de son cofacteur DGCR8 (*DiGeorge syndrome critical region 8*), le miARN précurseur ou pré-miARN résultant est exporté dans le cytoplasme, où il sera clivé par la RNase de type III, Dicer, accompagnée de l'un de ses cofacteurs, PACT (ou PRKRA : *protein activator of the double-stranded RNA-dependent kinase-PKR*) ou TRBP (ou TARBP2) [2]. Ce second clivage produit le miARN double brin mature, dont l'un des brins sera chargé au sein du complexe effecteur de l'ARN interférence RISC, composé notamment d'une protéine de la famille Argonaute (AGO). Or, la nature du duplex produit à l'issue du clivage par Dicer dépend du cofacteur associé à cette dernière. En effet, TRBP et PACT, malgré leur similarité de séquence, conduisent à des spécificités différentes de clivage des ARN double-brin substrats par Dicer, ce qui peut produire des miARN matures de taille variable [4,5].

TRBP, en plus de son rôle au cours de la biogenèse des miARN, est impliquée dans la réplication du virus de

https://doi.org/10.1051/medsci/2022089

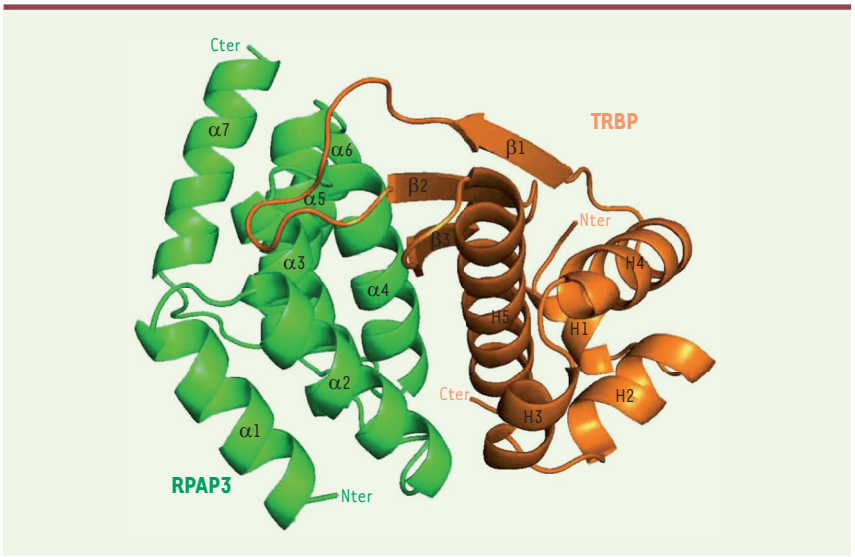

Figure 1. ***Représentation en ruban de la structure tridimensionnelle du complexe entre TRBP (en orange) et RPAP3 (en vert), obtenue par cristallisation avec une résolution de 1,49 Å après analyse des données de diffraction des rayons X.***

l'immunodéficience humaine (VIH) [6]. Comme son acronyme le laisse entendre, TRBP a d'abord été caractérisée par son interaction avec l'élément ARN transactivateur du VIH (TAR RNA pour *trans activating response RNA*), une structure en tige boucle de l'ARN viral [6]. La formation de cette structure particulière, située dans la partie 5' LTR (*long terminal repeat*) du génome viral, limite la traduction de ce dernier. La fixation de TRBP sur l'élément TAR déstabilise la structure en tige boucle, ce qui facilite alors la traduction [6]. Ainsi, TRBP contribue à l'infection virale. Récemment, il a même été suggéré que c'est le clivage de l'élément TAR par Dicer, associée à TRBP, qui permettrait de déstabiliser l'élément TAR, produisant par la même occasion des miARN viraux favorisant la multiplication virale en limitant l'apoptose des cellules infectées [7]. TRBP agit également sur d'autres aspects de la réplication virale en inhibant directement la protéine kinase R (PKR), activée en présence d'ARN exogènes, ou en l'inhibant indirectement, en empêchant son interaction avec l'une de ses protéines activatrice, la protéine PACT [6]. Il a été montré récemment que TRBP pouvait en outre recruter la 2'-*O*-méthyltransférase FTSJ3 (*FtsJ RNA 2'-O-methyltransferase 3*) pour méthyler l'ARN viral, limitant ainsi son caractère immunogène [8].

La protéine RPAP3 : un nouveau partenaire de la protéine TRBP

Compte tenu de l'importance des fonctions de TRBP dans la biogenèse des miARN et dans la réplication virale, des cribles d'interaction protéine-protéine ont été effectués, notamment par la technique de double-hybride chez la levure [9] (➜), afin d'identifier de nouveaux partenaires de liaison pouvant concourir à son activité ou à sa régulation [10]. En particulier, de nouveaux partenaires ont été recherchés parmi les protéines impliquées dans l'assemblage des petits ARN nucléolaires (snoARN). En effet, les snoARN constituent une nouvelle source possible de précurseurs des miARN [1], selon des mécanismes encore mal compris. Il a ainsi été rapporté que RPAP3 (*RNA polymerase II-associated protein 3*), un membre du complexe protéine chaperon, R2TP (RUVBL1/RUVBL2/RPAP3/PIH1D1), impliqué dans l'assemblage de différentes particules ribonucléoprotéiques, notamment les snoRNP, interagit avec TRBP [10]. Il a été montré que RPAP3 s'associait avec TRBP aussi efficacement que TRBP avec Dicer, mais qu'elle n'interagissait pas avec PACT, l'autre cofacteur de Dicer, pourtant paralogue de TRBP. L'interaction directe entre RPAP3 et TRBP a été confirmée *in vitro* et *in cellulo* par différentes techniques complémentaires. Ensuite, les sous-domaines protéiques impliqués dans l'interaction ont été définis, révélant que c'était le même domaine de TRBP qui était impliqué dans son interaction avec RPAP3 ou avec Dicer. Afin de déterminer si un complexe à trois partenaires pouvait exister entre TRBP, Dicer et RPAP3, des expériences de co-expression suivie de co-purification associées à des expériences de filtration sur gel ont été effectuées : elles ont révélé l'existence de deux complexes distincts et mutuellement exclusifs associant TRBP et Dicer d'une part, ou TRBP et RPAP3 d'autre part.

(➜) Voir la Nouvelle de M. Rederstorff, *m/s* n° 4, avril 2020, page 329

Finalement, l'hétérodimère constitué des sous-domaines protéiques impliqués dans l'interaction entre TRPB et RPAP3 a été purifié avec une grande homogénéité et cristallisé, permettant son analyse par diffraction des rayons X à une résolution de 1,49 angström (*Figure 1*). L'analyse globale de cette structure a permis de confirmer que c'était bien la même surface de TRBP qui était impliquée dans l'interaction avec Dicer ou RPAP3, confirmant les résultats précédemment obtenus par chromatographie d'exclusion. Une analyse approfondie a permis de définir les résidus clés de l'interaction entre TRBP et RPAP3.

Les rôles possibles du complexe TRBP:RPAP3

Afin de déterminer si RPAP3 a une influence sur l'activité de TRBP, et plus spécifiquement sur la maturation des miARN, des expériences utilisant le gène rapporteur codant la luciférase dont les transcrits présentent, dans leur région

3'-UTR, les sites de reconnaissance par le miARN Let-7 endogène, ont été effectuées sur des cellules de lignées de cancer colorectal témoins, ou n'exprimant plus la protéine RPAP3 [10]. Ces expériences ont montré qu'en absence de RPAP3, une répression plus importante de l'expression du gène rapporteur luciférase était observée, traduisant une activité d'interférence ARN plus importante. La quantification du niveau d'expression du miARN Let-7 mature et de son précurseur en présence ou en absence de RPAP3 a ensuite révélé une augmentation de 20 % du rapport Let7/pri-Let7 dans les cellules n'exprimant plus RPAP3, ce qui suggère que la maturation de ce miARN est augmentée en absence de RPAP3. Ainsi, les résultats obtenus laissent penser que RPAP3 pourrait séquestrer TRBP et en moduler l'activité, notamment en relation avec Dicer, et conduire à des variations dans le processus de maturation des miARN. ◊

A new mechanism of control of miRNA maturation?

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Abel Y, Clerget G, Bourguignon-Igel V, *et al.* Les petits ARN nucléolaires nous surprennent encore. *Med Sci (Paris)* 2014 ; 30 : 297-302.
2. Fressigné L, Simard MJ. La biogenèse des ARN courts non codants chez les animaux. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 137-44.
3. Dautry F, Ribet C. L'interférence par l'ARN : vers une génomique fonctionnelle chez les mammifères ? *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 815-9.
4. Wilson RC, Tambe A, Kidwell MA, *et al.* Dicer-TRBP complex formation ensures accurate mammalian microRNA biogenesis. *Mol Cell* 2015 ; 57 : 397–407.
5. Lee HY, Zhou K, Smith AM, *et al.* Differential roles of human Dicer-binding proteins TRBP and PACT in small RNA processing. *Nucleic Acids Res* 2013 ; 41 : 6568–76.
6. Gatignol A, Buckler-White A, Berkhout B, *et al.* Characterization of a human TAR RNA-binding protein that activates the HIV-1 LTR. *Science* 1991 ; 251 : 1597–600.
7. Komori C, Takahashi T, Nakano Y, *et al.* TRBP–Dicer interaction may enhance HIV-1 TAR RNA translation via TAR RNA processing, repressing host-cell apoptosis. *Biol Open* 2020 ; 9 .
8. Ringeard M, Marchand V, Decroly E, *et al.* FTSJ3 is an RNA 2'- O -methyltransferase recruited by HIV to avoid innate immune sensing. *Nature* 2019 ; 565 : 500–4.
9. Rederstorff M. Une mutation ponctuelle dans la protéine Rrp9 de la particule U3 entraîne un découplage des clivages précoces de l'ARN pré-ribosomique. *Med Sci (Paris)* 2020 ; 36 : 329-31.
10. Abel Y, Charron C, Virciglio C, *et al.* The interaction between RPAP3 and TRBP reveals a possible involvement of the HSP90/R2TP chaperone complex in the regulation of miRNA activity. *Nucleic Acids Res* 2022 ; 50 : 2172–89.