

TITRE (Français)	CONTRIBUTIONS A L'ETUDE DE L'ARCHITECTURE ET DE L'EVOLUTION DES RIBOZYMES
TITRE (English)	CONTRIBUTIONS TO THE STUDY OF THE ARCHITECTURE AND EVOLUTION OF RIBOZYMES
AUTEUR	Mélanie MEYER
UNIVERSITE	Université de Strasbourg
DATE	13 septembre 2013
LABORATOIRE	Architecture et réactivité de l'ARN - UPR9002 - IBMC / Génétique Moléculaire, Génomique, Microbiologie (GMGM) - UMR 7156 - IPCB
DIRECTION DE THESE	Benoît MASQUIDA
PARRAINAGE	

Les ARNnc ont longtemps été considérés comme des ARN déchets alors qu'ils représentent 98% des transcrits primaires chez les eucaryotes supérieurs et sont impliqués dans la régulation de l'expression des gènes. Les ARNnc adoptent des structures 3D composées à 70% de paires de bases Watson-Crick formant des hélices de types A liées entre elles par des jonctions modulaires ayant des caractéristiques géométriques spécifiques. Ces modules structuraux participent à la fonction de l'ARN dans lequel ils sont présents en permettant des interactions intra- ou intermoléculaires. Mon travail de thèse nous a permis de décrire un nouveau motif 3D d'ARN apparenté au k-turn, le pk-turn, situé dans la RNase P bactérienne de type A qui permet, comme le k-turn, la formation d'un angle de 60° entre les hélices P16 et P17 avec cependant des exigences de séquences et de structure différentes. L'autre ribozyme qui a cristallisé mon attention est le LCrz observé dans l'intron siamois du pré-ARNr 18S de la petite sous-unité du ribosome eucaryote du myxomycète *D. iridis*. LCrz catalyse une réaction de branchement, chimiquement identique à la première étape de l'épissage par les introns de groupe II, dans un contexte structural proche des introns du groupe I. Nous avons résolu la structure cristallographique du LCrz à une résolution de 2.5Å révélant un repliement inattendu en forme de chevalière. Cette structure a été confirmée par des expériences de SAXS. Ce travail de thèse nous permet une nouvelle fois de souligner la relation étroite entre structure et fonction dans l'évolution des ARN catalytiques.

*Non-coding RNAs (ncRNA) have been considered as junk RNA for a long time, although they represent up to 98% of primary transcripts RNA in higher eukaryotes. In fact, ncRNA finely tune gene expression via diverse mechanisms. They adopt 3D structures composed at 70% by Watson-Crick base pairs forming A-form helices linked by RNA motifs. 3D RNA motifs with specific geometric features are implicated in the function of the RNA in which they are embedded by mediating intra- or intermolecular interactions. My thesis work led first to identify the pk-turn, a new RNA motif related to k-turns. Pk-turn, as k-turns, allow for the formation of a sharp bent of 60° between stems P16 and P17 from the type A bacterial RNase P. However, it features different sequence and structural requirements. The second ribozyme which crystallized my attention is the Lariat-Capping ribozyme (LCrz), followed by a homing endonuclease gene, is inserted in GIR2, a group I intron. This twintron has been observed for the first time in the pre-rRNA 18S of the small subunit of the eukaryote *Didymium iridis*. LCrz catalyzes a reaction equivalent to the first step of splicing by group II introns, but in a structural context related to group I introns. We solved the 2.5Å crystal structural structure of the LCrz and confirmed the unexpected signet ring shape by means of SAXS experiments. Two crucial tertiary interactions are unraveled, L5/L2.1 and DP2/L9, between the peripheral domain and the ribozyme core. Even though the 3D structure has been solved for a post-cleavage state mimic of LCrz, the three nucleotides lariat is folded tightly constrained by specific interactions of each nucleotides of the lariat with nucleotides from the core. From a global point of view, the work derived from this thesis emphasizes the tight relationship between structure and function in the evolution of catalytic RNA.*

* L'ensemble ne doit pas dépasser le bas de cete page.